

---

ANNALES  
DE  
L'INSTITUT PASTEUR

---

## Action du ferment bulgare sur le lait

PAR MM. GABRIEL BERTRAND ET GUSTAVE WEISWEILLER

---

Parmi les divers microbes qui coagulent le lait en transformant le lactose en acide lactique, l'un d'eux, retiré du Yoghourt ou lait caillé bulgare, est certainement le plus actif. Tandis que la plupart des fermentations lactiques étudiés jusqu'ici cessent d'agir lorsque l'acidité atteint une dizaine de grammes par litre, le ferment bulgare va beaucoup plus loin; il poursuit son action jusqu'à 25 à 30 grammes.

Cette particularité, jointe à l'intérêt que présente l'emploi des laits caillés au point de vue alimentaire et même thérapeutique, surtout depuis les intéressantes recherches de M. Metchnikoff et de quelques-uns de ses élèves, nous a engagés à étudier avec soin les transformations que le ferment bulgare fait subir aux substances qui se trouvent dans le lait.

Ce sont les résultats de cette étude que nous communiquons ici.

### TECHNIQUE DES EXPÉRIENCES

#### *Le lait.*

Nous avons employé du lait donné comme pur par le commerce, ce qui d'après l'analyse exposée plus loin peut être admis comme exact.

Ce lait fut stérilisé par un chauffage à 110° pendant une

1. Voir la description de ce ferment dans le travail de M. Cohendy (*Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, t. 60, mars 1906).

demi-heure. Les flacons, qui étaient bouchés avec un tampon d'ouate et recouverts d'un double capuchon en papier à filtrer, furent ensuite placés dans une étuve à 29°, pendant plusieurs jours, avant d'être ensemencés.

Suivant les cas, le lait était employé en entier ou préalablement écrémé par centrifugation.

*Le ferment.*

Le ferment nous a été fourni par M. Metchnikoff. Pour l'entretenir au maximum d'activité, nous l'avons ensemencé, tous les deux jours, dans des tubes de lait stérilisé maintenus dans l'étuve à 29°. Cette période de 48 heures a toujours été suffisante pour amener la coagulation du lait. Avant de se servir du ferment pour un nouvel ensemencement, on avait la précaution d'en faire une préparation microscopique colorée au violet de méthyle, et d'en vérifier la pureté par un examen au microscope.

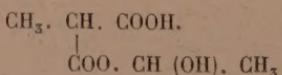
LA MÉTHODE D'ANALYSE

La première précaution à prendre, pour éviter les irrégularités dues à l'évaporation du lait pendant la période de culture, est d'opérer pondéralement; les matras doivent être tarés et la quantité de lait qu'on y verse exactement pesée (100 grammes); lorsqu'on veut procéder à l'analyse on peut ainsi par addition convenable d'eau distillée rétablir le poids primitif.

Comme l'analyse porte sur du lait coagulé, c'est-à-dire sur un mélange d'un liquide et d'un précipité, après avoir rétabli le poids primitif, on agite le tout vigoureusement de façon à diviser le précipité et obtenir une masse aussi homogène que possible.

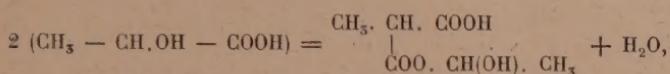
*Dosage de l'acidité.* — Pour faire ce dosage, on prélève 20 grammes de lait qu'on pèse dans un petit matras et qu'on titre, en présence de phthaléine, avec la liqueur de soude 1/5 N.

Comme dans ses solutions l'acide lactique produit par le microbe n'existe pas seulement à l'état d'acide réel, mais en partie sous la forme d'éther lactyllactique



il faut tenir compte de ce dernier.

L'éther lactyllactique prend naissance spontanément par réaction mutuelle de deux molécules d'acide avec élimination d'une molécule d'eau :



de sorte que l'acidité de cet éther représente seulement la moitié de celle de l'acide lactique dont il est formé; en milieu alcalin l'éther s'hydrate très aisément et reproduit les deux molécules d'acide lactique.

Voici comment on procède : lorsque le titrage a permis de saturer l'acidité libre du lait, on ajoute un excès de la solution de soude (5 c. c.) et on abandonne le matras bouché, à la température ordinaire, pendant une demi-heure; la saponification de l'éther lactyllactique est alors accomplie. Il ne reste plus qu'à déterminer, avec de l'acide sulfurique 1/3 N, la quantité de soude qui reste en excès. Tout ce qui a été employé de cet alcali, déduction faite de l'acidité primitive du lait, représente la totalité des acides qui ont pris naissance au cours de la fermentation.

La quantité d'éther lactyllactique ne représente guère que quelques centièmes de l'acidité libre.

On doit faire le titrage de l'acidité avec beaucoup d'attention, car les virages de teintes ne sont pas d'une très grande netteté, l'erreur maxima de lecture est de 0,25 c. c. de liqueur de soude correspondant à 0<sup>gr</sup>,045 d'acide lactique pour 100 grammes de lait.

Comme la matière protéique fixe une certaine quantité de phtaléine, on est forcé, vers la fin du titrage, d'ajouter de la phtaléine à différentes reprises, afin d'être sûr qu'il y en a en solution.

*Dosage des matières grasses et de la caséine.* — On préleve un échantillon de 10 grammes pesé dans un petit bécherglas; on y ajoute une solution de soude à 1,5 0/0 en quantité suffisante pour redissoudre la caséine.

Cette quantité, qui augmente nécessairement avec l'acidité, c'est-à-dire avec l'âge de la culture, varie de 6 à 18 c. c. On note le volume de soude employé. On transvase la solution dans une petite allonge à robinet, analogue à celle qui sert

pour l'analyse du lait par la méthode d'Adam<sup>1</sup>. On rince le bêcherglas avec 5-10 c. c. d'alcool à 96°, puis avec de l'éther, dont on emploie un volume double.

On bouche l'allonge et on agite doucement, de manière à mettre les liquides en contact, tout en évitant l'émulsion. Les matières grasses passent dans l'éther; on laisse déposer et, aussitôt que la séparation des deux couches de liquide est complète, on laisse écouler par le robinet la solution alcaline, légèrement opalescente; elle renferme toute la caséine.

*Matières grasses.* La couche éthérée est d'abord lavée avec quelques centimètres cubes d'eau qu'on fait couler, à l'aide de la pipette, le long des parois de l'ampoule. Cette eau de lavage, décantée par le robinet, est jointe à la solution de caséine, tandis que la solution éthérée est versée par le haut de l'ampoule dans une capsule tarée; on rince l'ampoule avec un peu d'éther qu'on ajoute dans la capsule. On laisse évaporer l'éther à la température ordinaire et on sèche, dans une étuve à 100°, le résidu de matières grasses jusqu'à poids constant.

*Caséine.* La totalité du liquide alcalin renfermant la caséine est reçue dans une petite éprouvette cylindrique à fond rond, d'une capacité d'environ 100 c. c. On y ajoute un excès d'acide acétique qui précipite la caséine. Si l'on se sert d'acide acétique à 5 0/0, il en faut verser exactement le même volume que celui de la liqueur de soude employée à dissoudre la caséine au début de l'opération. Pratiquement, pour éviter les dilutions, nous nous servons d'acide trois fois plus concentré.

Il est bon de verser l'acide goutte à goutte, en agitant le liquide au fur et à mesure avec une baguette de verre. On obtient ainsi une coagulation de la caséine en flocons plus faciles à rassembler que lorsqu'on ajoute d'un seul coup la totalité de l'acide.

Il est également préférable de ne pas différer la précipitation de la caséine par l'acide acétique, car le contact prolongé des alcalis pourrait altérer cette matière protéique. Dans nos expériences, cette précipitation avait lieu aussitôt après la séparation de la couche alcaline et de la couche éthérée.

On rassemble la caséine au fond du tube par centrifugation, puis on décante le liquide surnageant. Le précipité est alors

1. *J. de Pharm. et de Chim.*, S. 5, t. III, p. 24 (1881).

délavé dans 50 à 60 c. c. d'eau distillée et centrifugé; on renouvelle une seconde fois ce lavage. Les trois liquides décantés sont passés au fur et à mesure à travers un petit filtre préalablement taré. Ils renferment, entre autres substances, la totalité du lactose et de l'azote soluble. On les met à part pour y doser ce dernier élément.

La caséine restée au fond du tube est délayée dans 50 à 60 c. c. d'alcool à 96° et jetée sur le filtre; on la lave d'abord avec un peu d'alcool, puis on termine avec 25-50 c. c. d'éther. Ce traitement par l'alcool et l'éther déshydrate la caséine et enlève une petite quantité de matières grasses qui étaient restées dans le liquide alcalin après la première phase de l'opération. Le filtre et son précipité sont alors séchés à 105° jusqu'à poids constant et pesés. On calcine ensuite pour déduire de la caséine une petite quantité de cendres<sup>1</sup>.

Quant à la solution alcoolique éthérée, on l'évapore dans un bêcherglas, d'abord à la température ordinaire, puis au bain-marie. Le résidu est repris par un peu d'éther sec, qui dissout les matières grasses et laisse quelques impuretés adhérentes au verre; on décante et on évapore dans une petite capsule tarée. Le poids de cette matière grasse doit être ajouté à celui qui a été trouvé précédemment<sup>2</sup>.

*Dosage de l'azote soluble.* — Le liquide aqueux dont la caséine a été précipitée, y compris les eaux de lavage, est réduit par évaporation au bain-marie dans une capsule au volume d'environ 5 c. c.; on transvase celui-ci dans un ballon à long col, dans lequel on termine l'évaporation au bain-marie. Le résidu sirupeux est ensuite attaqué par 10 c. c. d'acide sulfurique bouillant en présence d'un petit globule de mercure. On poursuit le dosage de l'azote ammoniacal ainsi obtenu en suivant la méthode qui a été indiquée par M. Maquenne<sup>3</sup>. En raison de la petite quantité d'azote soluble, il faut prendre de l'acide sulfurique 1/5 N pour le titrage.

Il est bien entendu que tous les réactifs employés au cours

1. Quand on opère sur du lait stérilisé par la chaleur, comme c'est ici le cas, l'albumine coagulée accompagne la caséine.

2. Pour plus de rapidité, on peut peser le bêcherglas après l'évaporation à sec de son contenu, laver à l'éther et repérer le bêcherglas. La matière grasse est alors obtenue par différence des deux pesées.

3. *Bull. de la Soc. Chim. de Paris*; t. XXI, p. 312 (1899).

de cette analyse, y compris l'alcool, la soude, l'acide acétique, etc., etc., doivent être vérifiés exempts d'azote.

*Dosage du sucre.* — Dans une fiole jaugée à deux traits de 50-55 c. c. préalablement tarée, on verse du lait jusqu'au trait 50; on pèse pour avoir le poids du lait. Ensuite on complète le volume à 55 c. c. avec une solution de sulfate mercurique (renfermant, pour 50 grammes de sel, 17 c. c. d'acide sulfurique à 66 B et une quantité d'eau suffisante pour faire 130 c. c.). On mélange et on jette le tout sur un filtre. Le liquide filtré est ensuite additionné d'un excès de poudre de zinc et agité de temps en temps jusqu'à ce qu'il ne reste plus de mercure en solution. On reconnaît facilement qu'on a atteint ce résultat lorsqu'une goutte de liquide placée sur une lame de cuivre fraîchement polie n'y produit aucun dépôt grisâtre. On filtre pour enlever le zinc et on détermine sur le liquide limpide le pouvoir réducteur d'après la méthode indiquée par l'un de nous<sup>1</sup>.

Lorsque cette détermination est faite, on procède à l'hydrolyse du lactose. Pour cela on verse 20 c. c. du liquide déféqué dans un petit ballon avec 1 c. c. de solution d'acide chlorhydrique à 22 B; on porte à l'ébullition pendant 45 minutes et on maintient le volume du liquide constant à l'aide d'un petit réfrigérant vertical. Cette hydrolyse terminée, on laisse refroidir; on neutralise exactement avec de la soude, on ramène le volume à 50 c. c., on filtre le précipité d'hydroxyde de zinc, enfin on détermine à nouveau le pouvoir réducteur.

La durée d'ébullition de 45 minutes a été déterminée par une série d'essais sur une solution de lactose pur à 5 0/0 environ (exactement 4,951 0/0 anhydre). On a suivi l'hydrolyse au polarimètre.

On avait obtenu :

Après une ébullition de 30 minutes, une augmentation du pouvoir rotatoire de 18 0/0.

|   |   |    |   |   |    |   |
|---|---|----|---|---|----|---|
| — | — | 45 | — | — | 26 | — |
| — | — | 60 | — | — | 26 | — |
| — | — | 90 | — | — | 26 | — |

#### RÉSULTATS GÉNÉRAUX

Voici, rassemblés dans un tableau, les principaux résultats obtenus dans une de nos expériences :

1. G. BERTRAND, *Bull. Soc. Chim. de Paris*, 1906.

## POUR 100 GRAMMES DE LAIT

| Age de la culture en jours. | Caséine <sup>1</sup> . | Cendres de la caséine. | Az. soluble. | Matières grasses. | Sucre disparu calculé en hexoses. | Acidité apprue calculée en acide lactique. |
|-----------------------------|------------------------|------------------------|--------------|-------------------|-----------------------------------|--|
| 0                           | 3,11                   | 0,055                  | 0,056        | 0,51              | —                                 | —  |
| 1                           | 2,96                   | 0,014                  | 0,083        | 0,53              | 0,50                              | 0,41                                       |
| 2                           | 2,90                   | 0,029                  | 0,099        | 0,51              | 1,42                              | 1,27                                       |
| 3                           | 2,88                   | 0,017                  | 0,091        | 0,52              | 1,85                              | 1,65                                       |
| 5                           | 2,85                   | 0,011                  | 0,099        | 0,49              | 2,17                              | 2,02                                       |
| 12                          | 2,84                   | 0,006                  | 0,101        | 0,52              | 2,21                              | 2,22                                       |
| 30                          | 2,75                   | 0,009                  | 0,103        | 0,50              | 2,35                              | 2,29                                       |

## INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

*Caséine.* — Cette substance, qui est entièrement précipitée dès le second jour, diminue progressivement, mais dans une faible proportion ; après un mois de culture, 12 0/0 environ de cette matière protéique seulement ont disparu.

Il est remarquable que la quantité de sels insolubles entraînée par la caséine va en diminuant au fur et à mesure des dosages (voir cendres). Ceci peut être dû soit à ce que la caséine est modifiée de telle manière par la culture que son affinité pour les sels insolubles aille en décroissant, soit à ce que la proportion d'acétate de sodium, qui augmente d'un dosage à l'autre, agisse directement sur la solubilité de ces sels.

*Azote soluble.* — La quantité des matières azotées solubles qui prennent naissance aux dépens de la caséine augmente peu à peu ; elle est presque doublée dans les premiers jours de la culture.

Si l'on multiplie le poids d'azote soluble apparu par le facteur 6,4, qui représente le rapport de la caséine à l'azote, on obtient un chiffre qui représente très sensiblement le poids de la caséine disparue. Ceci montre que la caséine précipitée n'a pas subi de transformation notable dans sa composition élémentaire, comme cela pourrait arriver à la suite de certains dédoublements, qui isolent des portions de la molécule plus au moins riche en azote, mais, au contraire, que le microbe décompose profondément la petite quantité de caséine à laquelle il s'attaque.

On peut se demander ici si les quantités croissantes de soude et d'acide acétique employées au cours des dosages ne suffisent pas à expliquer les variations respectives de la caséine et de l'azote soluble.

1. Déduction faite des cendres.

Pour apprécier la valeur de cette hypothèse, nous avons dosé la caséine et l'azote soluble sur deux échantillons de 10 grammes du même lait, en employant dans un cas la plus petite quantité de réactif, dans le second la plus grande.

Voici les chiffres que nous avons obtenus :

Pour 100 grammes de lait :

|                                      | Soude à 1,5 0/0. | Acide acétique à 15 0/0. | Caséine 1. | Cendres. | Az. soluble. |
|--------------------------------------|------------------|--------------------------|------------|----------|--------------|
| 1 <sup>re</sup> Expérience : 6 c. c. |                  | 2 c. c.                  | 3,46       | 0,055    | 0,060.       |
| 2 <sup>e</sup> Expérience : 18 c. c. |                  | 6 c. c.                  | 3,08       | 0,026    | 0,069.       |

Ces chiffres montrent que les quantités variables de soude et d'acide acétique employées dans les dosages n'ont pas d'influence notable sur les résultats généraux.

*Matières grasses.* — Ces matières sont difficiles à doser avec une grande exactitude car, étant insolubles et d'une densité assez différente de celle du lait, elles tendent à se séparer, de sorte qu'on ne peut obtenir des prises d'essais parfaitement homogènes et rigoureusement comparables.

Il résulte toutefois des chiffres qui figurent dans le tableau (colonne 5), que le poids des matières grasses ne subit pas de modification appréciable, ce qui exclut déjà l'idée d'une saponification avancée au cours de la culture. En effet, si le beurre était complètement saponifié, il donnerait naissance à des acides solubles (butyrique, caproïque, etc.) en même temps qu'à de la glycérine, ce qui correspondrait à une diminution de 41 à 13,5 0/0 dans le poids des matières grasses. Mais une saponification partielle aurait pu se produire. Pour savoir s'il en était réellement ainsi, nous avons entrepris des expériences spéciales.

Du lait a été enrichi en matières grasses par addition de crème. Le liquide, bien mélangé, a été divisé aussitôt en deux parties égales; après stérilisation on aensemencé l'une et conservé l'autre comme témoin.

Après 10 jours de culture on a extrait les matières grasses contenues dans chacun des matras et, après les avoir pesées, on a déterminé leur acidité et leur indice de saponification.

On a trouvé :

1. Déduction faite des cendres.

| Pour 100 grammes de lait:         |       | Pour 100 gr. de matières grasses. |  |
|-----------------------------------|-------|-----------------------------------|--|
| Poids total des matières grasses. |       | Acidité totale en KOH.            | Indice de saponification en KOH <sup>1</sup> . |
| Lait témoin .....                 | 12,87 | 0,42                              | 22,7   |
| Lait cultivé.....                 | 12,41 | 0,44                              | 23,2   |

Ce sont là des différences très petites, de l'ordre des erreurs expérimentales. Il faut en conclure que si le microbe saponifie les matières grasses, comme on pourrait le croire en s'en rapportant simplement aux caractères organoleptiques, c'est dans une proportion très minime.

Nous avons constaté que le beurre extrait du lait cultivé est complètement décoloré, mais quand on le saponifie par la potasse alcoolique, il donne une solution rouge brunâtre.

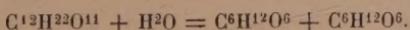
Malgré la faible action du microbe sur les matières grasses, nous avons constaté une certaine différence dans la marche de l'acidification entre deux laits, dont l'un avait été préalablement écrémé, tandis que l'autre était employé avec la totalité de sa crème.

L'acidification s'est produite d'abord un peu plus rapidement dans ce dernier, puis, au bout d'une huitaine de jours, c'est l'inverse qui a eu lieu; de sorte que finalement le lait écrémé est devenu plus acide.

| Acidité apparue calculée en acide lactique après | Pour 100 grammes de lait |            |
|--|--------------------------|------------|
|  | écrémé.                  | non écrémé |
| 3 jours.   | 1,48                     | 1,68       |
| 5 —  | 1,99                     | 2,08       |
| 19 —   | 2,44                     | 2,30       |
| 30 —   | 2,50                     | 2,34       |

Il est assez difficile d'interpréter cette singulière influence de la crème sur la marche de l'acidification.

*Le lactose.* — Le sucre de lait peut être transformé en acide lactique par le microbe soit directement, c'est-à-dire sans subir d'hydrolyse préalable, soit au contraire, et cela est à priori beaucoup plus probable, après avoir été dédoublé suivant l'équation bien connue, en un mélange à parties égales de glucose et de galactose :



Dans la première hypothèse il ne peut y avoir, à aucun moment, dans la culture, d'autres sucres réducteurs que le lactose.

1. L'indice de saponification du beurre est ordinairement compris entre 22,45 et 23,34.

Dans la seconde, plusieurs cas peuvent se présenter. Si la transformation en acide lactique se fait au fur et à mesure de l'hydrolyse, il n'y a jamais, comme dans la première hypothèse, que du lactose. Si, au contraire, la transformation en acide lactique est moins rapide que le dédoublement, il doit y avoir un mélange à parties égales de glucose et de galactose à côté du lactose inattaqué. Enfin, dans le cas où le microbe, après avoir hydrolysé le sucre de lait, agirait avec une vitesse différente sur l'un des deux hexoses qui proviennent du dédoublement, on pourrait trouver, à côté du lactose, soit du glucose seul, soit du galactose seul, soit un mélange en proportion inégale de ces deux sucres.

La plus grande complication analytique se présente, quand il y a à la fois du lactose, du glucose et du galactose. Ce sont là trois inconnues qui ne peuvent être déterminées qu'à la condition d'avoir trois équations. Les déterminations des pouvoirs réducteurs et des pouvoirs rotatoires, avant et après hydrolyse, devraient en fournir quatre; mais l'acide lactique produit par le microbe étant un mélange d'acide droit et d'acide gauche, variable suivant l'âge de la culture, les lectures au polarimètre n'ont plus la valeur absolue qu'elles auraient s'il n'y avait que des sucres en solution; on ne peut donc plus compter que sur les deux pouvoirs réducteurs pour suivre la transformation du lactose, ce qui enlève la possibilité de connaître, à aucun moment le rapport du glucose et du galactose.

Nous avons déterminé les deux pouvoirs réducteurs à différents âges de la culture. L'augmentation due à l'hydrolyse, qui est de 43,7 au début, lorsqu'il n'y a que du lactose, diminue peu à peu, comme on le voit dans le tableau suivant :

| Age de la culture<br>en jours | Augmentation du pouvoir réducteur<br>par hydrolyse. |
|-------------------------------|---|
| 0                             | 43,7 0/0  |
| 1                             | 34,5 —  |
| 2                             | 31,2 —  |
| 3                             | 26,8 —  |
| 5                             | 7,6 —   |
| 12                            | 4,3 —   |
| 30                            | 5,3 —   |

Ces variations établissent d'une manière très nette que, ayant d'être transformé en acide lactique, le sucre de lait subit un dédoublement préalable en glucose et galactose. En effet,

s'il n'y avait à tout moment que du lactose, l'augmentation du pouvoir réducteur, par suite de l'hydrolyse, resterait fixée à 43 0/0, comme pour le lait témoin. Mais elle devient de moins en moins appréciable; c'est donc que le lactose a déjà subi une partie de l'hydrolyse sous l'influence du microbe<sup>4</sup>.

Après deux semaines environ cette hydrolyse microbienne est si avancée qu'un chauffage avec l'acide, en vue de la compléter n'augmente plus le pouvoir réducteur que de 4 à 5 0/0 au lieu de 43.

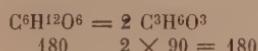
Quant à savoir si l'un des deux hexoses qui résultent de l'hydrolyse microbienne disparaît plus rapidement que l'autre, c'est un point qui ne peut être encore élucidé, pour la raison indiquée plus haut.

En somme, le ferment bulgare produit de la lactase; sous ce rapport il se rapproche de quelques microorganismes, en particulier de la levure du képhir. Cette lactase est sans doute fixée dans le corps du microbe; en tout cas, on n'en peut trouver dans le milieu de culture filtré à travers une bougie de porcelaine.

En opérant aseptiquement avec 40 c. c. de ce liquide additionné de trois grammes de lactose, nous n'avons constaté aucun changement de pouvoir rotatoire, c'est-à-dire aucune hydrolyse diastasique du lactose, après deux jours de conservation à l'étuve à 29°.

*L'acide lactique.* — L'examen du tableau qui résume les résultats analytiques montre que la presque totalité du lactose qui disparaît est transformée en acide lactique; du moins la coïncidence entre le poids du sucre calculé en hexoses et l'acidité calculée en acide lactique est-elle favorable à cette hypothèse.

On se rappelle, d'après l'équation théorique :



qu'une molécule d'hexose donne exactement son poids d'acide lactique.

Nous avons extrait les acides par des agitations répétées avec

4. Dans les conditions de la culture, l'acide lactique seul est insuffisant à dédoubler le lactose.

de l'éther en présence d'un petit excès d'acide sulfurique et nous avons constaté, en transformant ces acides en sels de zinc, qu'ils étaient formés presque exclusivement par de l'acide lactique; l'hypothèse ci-dessus se réalise donc pour la plus grande partie du lactose. Mais nous avons trouvé en outre, dans les dernières eaux-mères des sels de zinc, une petite quantité d'un acide cristallisable qui n'avait pas été signalé jusqu'ici dans les fermentations lactiques; cet acide, qui provient évidemment d'une réaction secondaire et ne correspond pas à plus de 3 0/0 de l'acidité totale, est de l'acide succinique<sup>1</sup>.

Pour identifier cet acide, nous l'avons d'abord régénéré de son sel de zinc par addition d'acide sulfurique et épuisement avec de l'éther; les cristaux obtenus ont ensuite été essorés et purifiés par cristallisation dans l'eau. Ils fondent exactement à 187-188°, comme l'acide succinique pur (au bloc Maquenne). Quand on les chauffe d'avantage, ils se volatilisent en donnant des vapeurs blanches extrêmement irritantes. Transformés en sel ammoniacal ils donnent, avec le perchlorure de fer, un précipité rouge gélatineux caractéristique; enfin le poids moléculaire, déterminé par la méthode alcalimétrique avec de l'eau de baryte, a donné le chiffre 119.4 au lieu de 118, calculé pour  $\text{COOH, CH}_2, \text{CH}_2, \text{COOH}$ .

Il restait à déterminer la nature de l'acide lactique produit par le ferment bulgare; nous l'avons fait par l'étude du sel de zinc. Celui-ci, soumis à la cristallisation fractionnée, a donné deux portions que nous avons examinées au polarimètre<sup>2</sup> et dans lesquelles nous avons dosé l'eau de cristallisation et le métal combiné. Les résultats montrent que l'acide lactique produit par le ferment bulgare est un mélange d'acide gauche avec un excès d'acide droit.

Voici les données analytiques des expériences qui ont été effectuées sur les sels préalablement desséchés dans une étuve à 30°.

1. On verra plus loin qu'il y a aussi une faible proportion d'acides volatils.

2. En solution à 2 0/0, longueur du tube 0<sup>m</sup>,50.

## CULTURE DE 5 JOURS

| $\text{m}_\text{b}^\text{t}$                         | $\text{H}_2\text{O}$<br>(à + 105°) | Zn 0/0<br>de sel | Zn 0/0<br>cristallisé anhydre. |
|--|------------------------------------|------------------|--------------------------------|
| 1 <sup>ers</sup> cristaux : — 4°3'                   | 18,21                              | 21,78            | 26,62                          |
| 2 <sup>es</sup> cristaux : — 6°9'                    | 15,17                              | 22,77            | 26,84                          |
| Calculé pour le racémate de zinc : 0°                | 18,18                              | 21,89            | 26,75                          |
| — le d-lactate de zinc : — 9° environ <sup>2</sup> . | 12,90                              | 23,30            | 26,75                          |

## RECHERCHE DES MATIÈRES VOLATILES

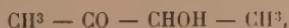
Nous avons d'abord recherché l'alcool, l'acétone et les acides volatils.

Dans une expérience, quatre litres de lait cultivé depuis 3 semaines environ ont été distillés dans le vide, de manière à recueillir deux litres de liquide ; celui-ci, additionné d'un léger excès d'eau de baryte, a été amené ensuite, par une série de distillations fractionnées au réfrigérant descendant de Schloesing, au volume de 7 c. c. L'essai de ce liquide final par la méthode de Lieben n'a donné aucun résultat ; il en a été de même avec le chlorure de benzoyle et avec le mélange chromosulfurique. On peut donc conclure qu'il n'y a production, au cours de la fermentation, ni d'alcool ni d'acétone.

Pour étudier les acides volatils, un nouveau litre de lait a été distillé dans le vide jusqu'à siccité. Le liquide distillé avait une faible réaction acide correspondant, d'après un essai à la baryte, à 0<sup>gr</sup>,53 d'acide acétique par litre.

En réalité, il ne renfermait pas seulement de l'acide acétique, comme nous l'avons vérifié par la production du sel d'argent et de l'acétate d'éthyle, mais probablement aussi une petite portion d'acide formique (réduction à chaud du sel d'argent).

La présence d'acide succinique dans le milieu de culture nous a conduits à rechercher s'il n'y avait pas en même temps de l'acétylméthylcarbinol,



corps à quatre atomes de carbone comme l'acide succinique et dont la présence à côté du 2,3 butyléneglycol



1. Les lactates de zinc actifs ont un pouvoir rotatoire de signe contraire à celui des acides qui leur correspondent.

2. Le pouvoir rotatoire varie beaucoup avec la concentration ; voir JUNGFLEISCH et GODCHOT, C. R. Ac. Sc., t. CXL, p. 719.

avait été signalée par Hardeq et Walpole dans les produits de fermentation du glucose par le *Bacillus lactis aerogenes*<sup>1</sup>.

Une telle constatation eût été d'autant plus intéressante que les trois corps désignés ci-dessus sont en rapport chimique très étroit les uns avec les autres et peuvent être considérés comme trois étapes successives d'une même action microbienne.

Une certaine quantité de lait fermenté a été distillée à sec dans le vide et le liquide essayé avec la liqueur de Fehling. Comme il n'y a pas eu traces de réduction, il n'y avait pas d'acétylméthylcarbinol.

#### RÉSUMÉ

Le ferment bulgare agit avec une intensité très différente sur les trois principales substances qui existent dans le lait.

Il solubilise une petite quantité de la caséine, environ le dixième, dont il utilise seulement une faible partie pour édifier ses cellules.

Son action sur les matières grasses est encore moins sensible ; il les saponifie, mais seulement dans une proportion très minime.

Enfin, il hydrolyse, à l'aide d'une lactase qui est sans doute une endolactase, la presque totalité du sucre de lait ; il transforme ensuite le glucose et le galactose qui résultent de cette hydrolyse en un mélange d'acide lactique gauche et d'acide lactique droit, mélange dans lequel ce dernier acide prédomine. A côté de l'acide lactique dont la quantité atteint facilement 25 grammes par litre, il y a peu d'acide succinique, environ 1/2 gramme par litre, à peu près autant d'acide acétique, et probablement enfin, de très petites quantités d'acide formique.

Nous n'avons trouvé parmi les substances volatiles ni alcool, ni acétone, ni acétylméthylcarbinol.

Le ferment bulgare est le premier ferment lactique vrai qui produise de l'acide succinique ; il donne aussi le premier exemple d'un ferment lactique qui dédouble visiblement le lactose avant de le transformer en acide.

1. *Proceedings of the Royal Society*, t. LXXVII, p. 399 (1906). Le *Bacillus lactis aerogenes* donne avec le glucose toute une série de produits, parmi lesquels figure à peine un dixième d'acide lactique. La fermentation complexe qu'il détermine ressemble beaucoup à celle de *Bacillus coli communis*, qu'il accompagne dans les fèces. Ni l'un ni l'autre de ces deux microbes ne sont à proprement parler de véritables ferment lactiques.

# LE DOSAGE DE LA MATIÈRE ALBUMINOÏDE DU LAIT

## ÉTUDE D'UN NOUVEAU PROCÉDÉ

PAR MM. TRILLAT ET SAUTON

---

Dans le présent travail, il est utile d'exposer tout d'abord l'état actuel de la question du dosage de la matière albuminoïde du lait, et de faire ressortir les raisons qui l'ont motivé.

Après avoir décrit le principe de la nouvelle méthode de dosage et le mode opératoire adopté, nous résumerons dans un chapitre spécial les essais de contrôle qui nous ont permis d'en vérifier l'exactitude.

Suivant cet ordre, cette étude est divisée en 3 parties :

1<sup>o</sup> Etat actuel de la question : examen des méthodes actuelles ;

2<sup>o</sup> Nouveau procédé de dosage ;

3<sup>o</sup> Contrôle et vérification de la méthode.

### § I

#### EXAMEN DES MÉTHODES ACTUELLES

A partir du moment où l'étude de la matière albuminoïde du lait a été ébauchée, les notions nouvelles apportées, au lieu d'éclairer les idées anciennes, semblent les avoir rendues confuses<sup>1</sup>. A la caséine sont venus s'ajouter successivement, dans le lait, le serai (*Ziger* des Allemands), l'albumine, l'albuminoïse, la lactoprotéine, la protéine ou sérum (*Molkenprotéine*), les peptones. Pendant que ces substances nouvelles faisaient leur stage scientifique, MM. Danileswski et Radenhausen<sup>2</sup> ont fait un travail dont les conclusions les rayèrent du tableau ; elles furent remplacées par la caséoalbumine, la caséoprotalbine, l'orroprotéine, l'albumine du sérum, la lactosyntoprotalbine, le lactosyntogène, la lactopeptone et la lactopseudopeptone etc. Et on pourrait encore allonger la liste.

1. DUCLAUX, *Annales de l'Institut agronomique*, t. VIII, 1883.

2. *Untersuch. über d. Eiweistoffe d. Milch* (*Petersen's Forschungen*, 1880).

Au point de vue *exclusivement analytique* auquel nous nous plaçons, ces distinctions n'ont pas été sans exercer une influence fâcheuse. Pour certains analystes, le dosage de la caséine du lait a consisté à évaluer le poids du précipité obtenu par l'acide acétique dans des conditions qui n'ont pas été suffisamment définies<sup>1</sup>; d'autres, dans le dosage de la caséine, ont fait entrer en ligne de compte la matière albuminoïde qui échappait à la précipitation. De là vient que la dénomination de caséine dans le langage analytique a été appliquée tantôt à l'un, tantôt à l'autre de ces deux modes opératoires. Cette interprétation différente a pu donner lieu à des malentendus qui subsistent encore parfois aujourd'hui.

Cette confusion n'a pas échappé à la critique de Duclaux qui, dans un autre ordre d'idées, a fait ressortir le danger de cet émiettement et s'est attaché à démontrer que les différences fondamentales sur lesquelles on s'appuyait pour différencier les matières albuminoïdes du lait étaient illusoires et qu'elles se confondaient en réalité dans certaines conditions d'expérience. Toutes ces observations le conduisirent à conclure qu'à l'état de solution parfaite, les matières albuminoïdes du lait se confondaient et ne commençaient à différer qu'à l'état muqueux ou à l'état solide, c'est-à-dire lorsque entraient en jeu des questions non de constitution, mais d'agrégation moléculaire. Aussi, en dernière analyse, Duclaux a défini la caséine comme étant la matière albuminoïde du lait<sup>2</sup>.

Il peut être important, non seulement au point de vue scientifique mais aussi au point de vue industriel, d'établir une distinction entre ces matières albuminoïdes; nous pensons cependant, comme d'ailleurs beaucoup d'auteurs, que dans l'évaluation de la richesse du lait, c'est-à-dire dans l'analyse courante comme dans l'expertise, le dosage doit comporter la totalité des matières azotées, qu'elles soient constituées par de la caséine sous divers états, comme l'a supposé Duclaux, ou qu'elles soient formées, selon d'autres savants, par la réunion de matières albuminoïdes distinctes les unes des autres.

Elles n'en représentent pas moins en effet dans leur ensemble le principal élément nutritif du lait.

1. VILLIERS et COLLIN, *Altérations et falsifications des substances alimentaires*.

2. DUCLAUX, *Le Lait*, édit. Baillière, 1887, p. 65.

\* \* \*

Actuellement, le dosage de la matière albuminoïde s'effectue de deux manières : 1<sup>o</sup> par différence, 2<sup>o</sup> directement.

1<sup>o</sup> *Dosage de la caséine par différence.*

La plus répandue, la plus commode en vérité, mais en même temps la plus défectueuse, consiste à faire ce dosage par la différence entre le poids de l'extrait à 93° et celui des éléments du lait.

Il n'est pas difficile de démontrer l'insécurité de ce procédé : en voici les deux principales raisons :

a) Le poids de l'extrait ne peut être que purement conventionnel ; il varie pour le même lait avec la durée de chauffage, la dimension de la capsule, la nature des parois agissant comme agent catalysant<sup>1</sup>, la quantité de lait, l'état hygrométrique, la forme et la dimension du bain-marie, l'intensité du chauffage<sup>2</sup>. Aussi pour arriver à une concordance relative des résultats, les chimistes ont dû adopter un mode opératoire fixant les conditions du dosage : ce mode opératoire varie avec les pays<sup>3</sup> : bien plus, en France, par exemple, la dimension des capsules déterminée par le Comité consultatif d'hygiène n'est pas adoptée dans tous les laboratoires.

Le tableau suivant donne un exemple des résultats d'un même lait dont on a fait l'extrait avec le plus grand soin dans le même temps, sur le même bain-marie, dans des capsules de mêmes dimensions, mais de nature différente.

|                                 |              |                       |
|---------------------------------|--------------|-----------------------|
| Capsule de porcelaine.....      | (par litre). | 123 <sup>gr</sup> ,38 |
| Capsule de verre.....           | —            | 124 <sup>gr</sup> ,15 |
| Capsule de nickel.....          | —            | 123 <sup>gr</sup> ,13 |
| Platine { chauffage modéré..... | —            | 123 <sup>gr</sup> ,58 |
| Platine { chauffage rapide..... | —            | 121 <sup>gr</sup> ,44 |
| Extrait dans le vide.....       | —            | 124 <sup>gr</sup> ,03 |

Si l'on fait varier simultanément d'autres facteurs, leur différence peut atteindre facilement 0<sup>gr</sup>,5 0/0.

L'extrait dans le vide, comme c'est le cas pour le vin, offre plus de fixité que l'extrait à 100° et donne généralement des chiffres plus concordants ; mais si les différences de poids

1. *Bulletin de l'Assoc. des Chim. de Sucrerie et de Distillerie*. Mars, 1906.

2. VILLERS, *loc. cit.*

3. VILLERS, *loc. cit.*

deviennent négligeables d'un jour à l'autre à l'exposition sous la cloche, elles ne continuent pas moins à se produire indéfiniment. En voici un exemple :

|                            |                       |      |
|----------------------------|-----------------------|------|
| Extrait après 5 jours..... | 123 <sup>er</sup> ,17 | 0/00 |
| — après 10 jours.....      | 122 <sup>er</sup> ,76 |      |
| — après 20 jours.....      | 122 <sup>er</sup> ,55 |      |
| — après 30 jours.....      | 122 <sup>er</sup> ,19 |      |
| — après 50 jours.....      | 120 <sup>er</sup> ,70 |      |

Nous avons constaté d'autre part des différences plus considérables dans quelques cas, par suite de la décomposition de certains éléments de l'extrait sous l'influence de ferment;

b) On peut encore démontrer que, pour un même lait, l'écrémage et le mouillage faussent, toutes proportions gardées, le poids véritable de l'extrait parce que dans le premier cas la fraude diminue la matière grasse qui retient de l'eau au cours du chauffage et que, dans le deuxième cas, la dessiccation s'effectue plus rapidement.

Lait témoin par litre { beurre 39 grammes.  
extrait 129 —

Même lait écrémé { beurre 28 —  
extrait 116gr 24 —

Même lait mouillé à 30 0/0 extrait : 89<sup>gr</sup> 39 (chiffre théorique : 90<sup>gr</sup> 30)

Même fait mouillé à 30 0/0 ex) fait : 89<sup>er</sup>,39 (chiffre théorique : 90<sup>er</sup>,30);

c) Outre les variations du poids de l'extrait, d'autres causes d'erreur peuvent encore intervenir.

D'après certains auteurs, le lait paraît contenir, à l'état de combinaisons alcalines, certains produits distincts des matières albuminoïdes qui sont détruits au cours de l'incinération : il en résulte une erreur en plus dans l'évaluation de la caséine par différence. Enfin, dans le dosage de la matière grasse, la plupart des procédés laissent échapper une petite quantité de beurre ; ici l'erreur est en moins.

La détermination de l'extrait étant sujette à de pareilles variations, le poids de la matière albuminoïde obtenu par la différence de la somme des éléments et du poids de l'extrait ne peut donc être que *conventionnelle*, comme nous le disions plus haut, et sujette à des fluctuations.

C'est la conclusion qui se dégage des considérations précédentes.

## 2<sup>o</sup>. Dosage direct de la caséine.

On peut rapporter à deux types principaux les méthodes de

dosage direct de la matière albuminoïde dans le lait : celles dans lesquelles on dose la caséine en bloc en la précipitant par un de ses réactifs et dont la plus connue<sup>1</sup> est la méthode de Hoppe-Seyler ; celles dans lesquelles on procède systématiquement au dosage de diverses matières albuminoïdes dont on admet la présence dans le lait : c'est la méthode qui a été proposée par Millon et Commailles<sup>2</sup> et qui a été très pratiquée. La méthode de dosage par la présure, qu'on a appliquée dans l'industrie fromagère, est inacceptable dans l'évaluation de la richesse d'un lait destiné à la consommation.

Les méthodes basées sur l'emploi de l'acide acétique présentent des cas d'insécurité, car la matière albuminoïde du lait, incomplètement précipitée par un défaut d'acide acétique, est solubilisée partiellement au moindre excès. C'est pour parer à l'insuffisance d'acide acétique qu'est destiné, dans la méthode de Hoppe-Seyler, le courant d'acide carbonique qui a la propriété de provoquer une nouvelle précipitation sans qu'il y ait redissolution sensible du coagulum formé.

Divers perfectionnements ont été apportés à ces méthodes en vue de séparer complètement la matière albuminoïde.

Le principal est la substitution à l'acide acétique de l'acide trichloroacétique qui précipite la totalité de la matière albuminoïde du lait et offre un excellent moyen de la séparer rapidement de l'élément liquide. L'excès d'acide trichloroacétique dissout cependant à la longue une petite quantité de matières azotées. On pourrait éviter cet inconvénient en opérant rapidement, mais nous avons constaté que si on cherchait à purifier par lavage la matière albuminoïde ainsi séparée, elle redevenait légèrement soluble. D'autre part, le précipité non lavé fournit à l'analyse un excès de matière minérale.

Parmi d'autres perfectionnements, nous citerons celui de M. Patein, qu'il a plus spécialement appliqué au lait de femme et qui consiste essentiellement à ajouter l'action précipitante de l'alcool à celle de l'acide acétique<sup>3</sup>. M. Patein fait cependant observer que dans certains cas le filtrat donne un louche par l'addition de l'acide trichloroacétique ou du réactif de Tanret.

1. Duclaux, *Le Lait*, p. 149.

2. *Comptes rendus de l'Ac. des Sciences*, t. LIX.

3. *Journal de Pharmacie et de Chimie*, 1905.

Enfin, il est bon de signaler encore le procédé élégant dû à M. Denigès, basé sur un principe tout différent qui constitue une méthode volumétrique pour le dosage de la matière albuminoïde du lait et qu'il désigne sous le nom de *méthode cyanargentimétrique*. Dans ce procédé, on emploie pour le calcul de la caséine un tableau de correspondance établi expérimentalement avec les méthodes à l'acide acétique<sup>1</sup>.

Nous rappellerons que les résultats fournis par la méthode qui consiste à évaluer la caséine en multipliant le poids obtenu pour l'azote par un coefficient conventionnel sont concordants et comparables entre eux; mais ils ne donnent pas le poids absolu de la matière albuminoïde et dans certains cas de fraude, comme par exemple dans celui de l'addition de sels ammonia- caux, les résultats du dosage peuvent être défectueux.

## § II

### NOUVEAU PROCÉDÉ DE DOSAGE

*Principe de la méthode.* — Le nouveau procédé de dosage repose sur la propriété que possède la formaldéhyde d'insolubiliser les matières albuminoïdes. Cette remarquable propriété a été signalée plusieurs fois par l'un de nous<sup>2</sup>, notamment à propos de l'albumine du blanc d'œuf et du sérum, de la gélatine, etc. Elle lui a permis déjà de reconnaître et de doser la gélatine dans la gomme<sup>3</sup>.

L'ignorance des conditions exactes dans lesquelles cette méthode devait être appliquée au lait n'a pas permis, jusqu'à ce jour, de l'utiliser pour son dosage, bien que l'idée en ait été émise plusieurs fois.

Nous rappellerons que la formaldéhyde ne précipite pas la matière albuminoïde de ses solutions étendues, comme quelques auteurs l'ont écrit: bien plus, *elle est même un obstacle à sa précipitation et surtout à sa coagulation par la chaleur*. C'est ainsi qu'une solution concentrée d'albumine, contenant 10/0 de formaldéhyde, peut être portée à l'ébullition sans coaguler; de même, elle n'est plus que très difficilement précipitée en solu-

1. *Bulletin de la Société chimique*, 1896, t. XV, p. 4446.

2. *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, mai et août, 1892.

3. *Bulletin de la Société chimique et Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, 1900.

tion concentrée par le chlorure de calcium. Il faut donc considérer l'aldéhyde formique non comme *précipitant*, mais comme *insolubilisant* la matière albuminoïde. C'est tout le principe de notre méthode.

\* \* \*

Ces observations indiquent suffisamment pourquoi il était nécessaire d'étudier d'abord les propriétés de la matière albuminoïde formolée, d'examiner ensuite comment cette insolubilisation devait être appliquée, et enfin de déterminer la composition élémentaire de la substance ainsi transformée.

Suivons la question dans cet ordre.

*Propriétés de la matière albuminoïde insolubilisée.*

La matière albuminoïde du lait ayant subi l'action de la formaldéhyde acquiert une résistance considérable vis-à-vis des dissolvants et des réactifs. C'est grâce à cette parfaite insolubilité, dont il est difficile de trouver un exemple dans les corps organiques, qu'on peut l'amener à une fixité complète de poids et de composition. Elle est insoluble dans l'eau bouillante, l'alcool, l'éther, la benzine, le toluène, l'acétone, le tétrachlorure de carbone; les acides sulfurique, chlorhydrique et acétique, étendus et même concentrés à 50 0/0, se bornent à la gonfler après un contact de quelques heures; il en est de même de la potasse et la soude étendues.

L'ammoniaque concentrée, dont une faible proportion suffit à solubiliser la caséine, n'a aucune action, même à l'ébullition prolongée. Enfin elle a complètement perdu sa faculté d'être digérée dans les sucs gastriques et pancréatiques<sup>1</sup>. Comme on le verra plus loin dans la partie de ce travail qui a trait au contrôle de la méthode, la composition élémentaire de la matière albuminoïde insolubilisée correspond à celle qui a été donnée pour la caséine par les auteurs qui se sont le plus occupés de sa purification.

MODE OPÉRATOIRE POUR LE DOSAGE DE LA MATIÈRE ALBUMINOÏDE DU LAIT

3 c. c. de lait sont étendus à 25 c. c., par de l'eau distillée, dans un verre de Bohême de 100 c. c.; on porte à l'ébullition

1. *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, 1904.

pendant 5 minutes, le liquide est ensuite additionné de 5 gouttes de formol du commerce.

Il est de toute importance d'observer que cette addition de formol doit avoir lieu *après ébullition*; sans cette précaution, une partie de la matière albuminoïde (celle précisément qui est désignée sous le nom d'albumine du lait) échapperait à cette précipitation.

On laisse bouillir encore 2 à 3 minutes; on abandonne au repos pendant 5 minutes, puis on traite le liquide par 5 c. c. d'acide acétique à 10/0; on agite au moyen d'une baguette de verre. Il se forme un précipité pulvérulent qu'on recueille sur un filtre taré de petites dimensions<sup>1</sup>. On lave à l'eau distillée. Les eaux du filtrat ne doivent donner aucun précipité avec les réactifs les plus sensibles des matières albuminoïdes. On introduit le filtre et son contenu dans un appareil à épuisement et on extrait la matière grasse par l'acétone qui permet un dégraissage beaucoup plus rapide que l'éther; on dessèche à l'étuve à 75-80° et on pèse. Le précipité obtenu est blanche, il ne doit pas adhérer au papier, ni laisser de tache graisseuse par transparence.

L'opération totale s'effectue en moins de deux heures et il est facile de conduire simultanément plusieurs dosages.

L'expérience nous a montré que l'acide acétique convenait mieux que les acides nitrique ou chlorhydrique.

Le mouillage, l'écrémage, la stérilisation et l'aigrissement du lait n'ont aucune influence sur la bonne marche du dosage; la méthode a été également appliquée aux laits de brebis, de chèvre et d'ânesse, au petit-lait de vache et au lait colostral.

A titre d'exemple, voici quelques résultats qui démontrent que la méthode est applicable à tous les cas.

|                                | Matière albuminoïde<br>par litre. |
|--------------------------------|-----------------------------------|
| Lait de vache normande.....    | 39,109 0/00                       |
| Même lait mouillé au 1/10..... | 35,330                            |
| Même lait mouillé au 1/20..... | 31,186                            |
| Même lait mouillé au 1/50..... | 19,500                            |

1. Au lieu de procéder de cette manière, on peut aussi placer le lait dans un ballon et ajouter le formol après l'acide; on bouche le ballon et on l'abandonne 20 minutes jusqu'à complet refroidissement avant de filtrer.

|                                    |        |      |
|------------------------------------|--------|------|
| Lait de brebis (Aveyron) . . . . . | 55,320 | 0,00 |
| Lait de chèvre . . . . .           | 36,640 |      |
| Lait d'ânesse . . . . .            | 21,030 |      |
| Lait colstral . . . . .            | 41,000 |      |
| Petit-lait . . . . .               | 4,500  |      |

*Dosage simultané de la matière grasse.* — La présence du formol, par suite de ses propriétés réductrices, ne permet pas d'opérer le dosage du lactose, mais par contre on peut effectuer directement celui de la matière grasse en distillant ou évaporant l'acétone (25 à 30 c. c.) dans le récipient taré qui a servi à l'extraction ; nous avons contrôlé en effet que la matière grasse était entièrement retenue dans le précipité. Le poids de beurre est donné par différence.

On peut aussi employer le procédé Adam et doser la matière grasse avant l'insolubilisation de la matière albuminoïde. Dans ce cas, il faut s'assurer que l'ammoniaque a été complètement chassée par l'ébullition au moment où l'on ajoute la formal-déhyde.

*Influence du bichromate de potasse employé comme agent conservateur du lait.* — Il était utile de se rendre compte de l'influence, sur la méthode, des conservateurs de lait utilisés dans les laboratoires. Dans certains pays, comme en Belgique et en Suisse, les laits prélevés sont parfois immédiatement additionnés de bichromate de potasse, pour éviter les fermentations ultérieures et permettre, en cas d'expertise contradictoire, de conserver ces laits pendant plusieurs semaines. Les résultats suivants, s'appliquant à des laits additionnés de 1 0 '00 de bichromate de potasse, démontrent que l'addition du conservateur n'a eu aucune influence sur le dosage.

|  |            |       |
|--|------------|-------|
| 1. { Lait témoin . . . . .               | par litre. | 38,50 |
| Même lait bichromaté au 1/1000 . . . . . |            | 38,50 |
| 2. { Lait témoin . . . . .               |            | 36,70 |
| Même lait bichromaté au 1/1000 . . . . . |            | 36,69 |

Le lait de femme peut être dosé par ce procédé : nous ferons connaître ultérieurement le moyen de l'appliquer sur une très petite quantité de ce lait.

Le tableau suivant rend compte de l'écart des résultats fournis par notre méthode et le procédé par différence qui est adopté généralement dans les laboratoires.

| Échantillons. | Dosage par différence. |     | Dosage direct.<br>gr. 0/00. |
|---------------|------------------------|-----|-----------------------------|
|               | gr. 0/00.              | ... |                             |
| 1.....        | 39                     | ... | 37,80                       |
| 2.....        | 36                     | ... | 35,60                       |
| 3.....        | 36,5                   | ... | 34,90                       |
| 4.....        | 38,5                   | ... | 36                          |
| 5.....        | 33                     | ... | 32,20                       |

Ces résultats, nous le rappelons, confirment l'opinion de beaucoup de chimistes et notamment celle de Duclaux : que la somme des éléments dosés dans le lait (sucre, beurre et cendre), n'est pas égale au poids de l'extrait.

### § III

#### CONTRÔLE DE LA MÉTHODE

Pour se rendre compte de l'exactitude de cette méthode de dosage, il ne suffisait pas de précipiter totalement la matière albuminoïde du lait, il fallait encore prouver qu'elle présentait bien la composition élémentaire de la caséine. Enfin une objection pourrait venir à l'esprit : la fixation de l'aldéhyde formique peut-elle amener une perturbation dans le poids de la matière albuminoïde transformée, soit par la soudure du résidu aldéhydique, soit à la suite de la condensation intramoléculaire qui s'opère vraisemblablement avec élimination d'eau ?

Pour répondre à ces diverses questions, nous avons établi :

- 1<sup>o</sup> Que toute la matière albuminoïde était séparée;
- 2<sup>o</sup> Qu'elle possédait bien la composition élémentaire de la caséine;
- 3<sup>o</sup> Qu'à la suite de sa transformation, son poids ne variait pas.

Nous allons exposer dans cet ordre les moyens de vérification employés :

I. — a) Les réactifs de la matière albuminoïde que nous avons utilisés pour examiner les eaux du filtrat après séparation du précipité sont : l'acide azotique, l'acide trichloroacétique, les réactifs de Tanret, d'Adamkiewitz, de Millon, de Brücke et d'Esbach.

Ces réactifs ont été ajoutés au liquide du filtrat, comparativement à des solutions contenant environ 1/20.000 de matières albuminoïdes du lait (1 c. c. de lait environ dans 1 litre d'eau), afin d'avoir une limite de sensibilité. Ces essais comparatifs ont

permis de nous assurer que les eaux du filtrat ne contenaient pas de matières albuminoïdes;

*b)* Pour nous assurer que le traitement du lait par notre méthode n'avait pas détaché une petite quantité d'azote de la molécule albuminoïde (comme c'est le cas lorsqu'on chauffe une solution de caséine en présence d'une petite quantité d'alcali ou d'un acide), nous avons recherché l'azote sous ses diverses formes, en utilisant les méthodes d'analyse les plus sensibles. Les résultats ont été négatifs;

*c)* Puisque l'azote, sous aucune de ses formes, ne pouvait être décelé dans les eaux de lavage, le poids de l'azote de la matière albuminoïde transformée par le formol et séparée devait être sensiblement égal à celui du lait traité. C'est ce que confirme le tableau suivant :

|  | I      | II     |
|--|--------|--------|
| Poids de l'azote dans 5 c. c. de lait,.....  | 0,790  | 0,7902 |
| Poids de l'azote du précipité correspondant. | 0,7894 | 0,7860 |

II. — *a)* Les précédentes recherches, qui s'appliquent spécialement à l'azote, n'indiquent pas si la matière albuminoïde, ainsi séparée dans sa totalité, est suffisamment pure et présente la composition élémentaire de la caséine telle qu'elle a été donnée par les auteurs qui se sont le plus occupés de sa purification. En dehors de l'azote, nous avons dans la matière insolubilisée dosé le phosphore, le soufre, le carbone et l'hydrogène, et nous avons aussi évalué le résidu minéral.

Les résultats de nos analyses sont compris, comme l'indique le tableau suivant, dans les limites des chiffres trouvés par Dumas et Volcker :

| Matière album. insolubilisée. | Dumas,        | Volcker.     |
|-------------------------------|---------------|--------------|
| Carbone.....                  | 52,88         | 53,50        |
| Hydrogène.....                | 6,96          | 7,05         |
| Azote.....                    | 15,80         | 15,77        |
| Oxygène.....                  | 22,82         | 21,92        |
| Phosphore.....                | 0,74          | 0,74         |
| Soufre.....                   | 0,83          | 1,41         |
| Cendre.....                   | Impondérable. | 0,32         |
|                               | <hr/> 100,00  | <hr/> 100,00 |
|                               |               | 100,00       |

*b)* Hammarsten s'est appliqué tout spécialement à préparer de la caséine pure, au moyen d'une série de précipitations et de lavages appropriés. Il a obtenu en fin de compte une matière parfaitement blanche, exempte de cendre et qu'il a considérée

comme de la caséine à peu près pure. Nous avons analysé un échantillon de caséine préparée en suivant le procédé décrit par Hammarsten. Nos chiffres confirment les siens et sont, d'autre part, sensiblement les mêmes que ceux provenant de l'analyse élémentaire de la caséine formolée.

| Matière albuminoïde insolubilisée. | Composition de la caséine d'après Hammarsten. | Caséine préparée d'après le procédé Hammarsten. |
|------------------------------------|---|---|
| Carbone....                        | 52,88   | 52,96   |
| Hydrogène....                      | 6,96  | 7,03  |
| Azote.....                         | 15,80   | 15,65   |
| Oxygène....                        | 22,82   | 22,713  |
| Phosphore....                      | 0,71  | 0,847   |
| Soufre.....                        | 0,83  | 0,780   |
| Cendre.....                        | Impondérable.                                 | Impondérable.                                   |
|                                    | 100,000                                       | 100,000   |
|                                    |   | 100,000   |

### III. — La transformation de la matière albuminoïde en une substance insoluble amène-t-elle une variation dans son poids?

La concordance de nos chiffres d'analyse avec ceux d'Hammarsten ne suffit pas en effet pour répondre complètement à la question. La théorie s'accorde avec la pratique pour démontrer que la matière albuminoïde, à la suite de son insolubilisation sous l'action de la formaldéhyde, ne varie pas de poids d'une manière apparente et que cette variation est inférieure aux erreurs de pesées.

En voici la démonstration faite sous ces deux points de vue :

*a)* On peut admettre que la combinaison de la matière albuminoïde avec la formaldéhyde s'effectue entre une molécule de celle-ci et deux de la première. C'est de cette manière que se combinent, par exemple avec la formaldéhyde les amines de la série aromatique. Cette comparaison est d'autant plus justifiée qu'à la suite de cette combinaison certains d'entre eux, comme les dérivés amidés qui contiennent des groupements phénoliques, acquièrent une insolubilité semblable à celle de la caséine formolée.

Si l'on compare d'une part le poids moléculaire de la formaldéhyde à celui de la caséine, considérablement plus élevé; si l'on réfléchit que la fixation du résidu méthylénique d'un poids moléculaire de 14 se fait vraisemblablement avec élimination de 16 d'eau, on peut déjà prévoir que la combinaison entre la caséine et la formaldéhyde, même en admettant que plusieurs molécules de celle-ci entrent en jeu, ne modifie pas

sensiblement le poids de la caséine transformée et que l'erreur est de même ordre de grandeur que celle qui résulterait des pesées;

*b)* Cette théorie est confirmée par les résultats des expériences suivantes :

*Expérience.* — 10 grammes de caséine, bien dégraissée et purifiée, sont placés sous une cloche de 5 litres dans laquelle on a fait vaporiser 4 décigramme de trioxyméthylène. Au bout de 48 heures on retire la caséine. On la sèche dans les mêmes conditions et on la pèse. Son poids n'a pas sensiblement varié : elle est devenue cependant complètement insoluble dans l'ammoniaque concentrée et les alcalis. Cette transformation a eu lieu sous l'influence de traces de vapeurs de trioxyméthylène ;

*c)* Le poids de 10 grammes de caséine mis en suspension dans une solution de formol à 3 0/0 ne varie presque pas à la suite de son insolubilisation.

Inversement, le titre d'une solution aqueuse de formol, dans laquelle on a laissé la caséine s'insolubiliser, ne change pas sensiblement. Dans ces expériences, pour éviter les erreurs de titrage, il faut laver soigneusement la caséine, qui retient mécaniquement de la formaldéhyde ;

*d)* L'essai suivant démontre que l'excès de formaldéhyde n'a aucune influence sur l'augmentation du poids de la matière albuminoïde transformée.

Plusieurs prélèvements de 5 c. c. d'un même lait ont été effectués. On a dosé la matière albuminoïde d'après la méthode indiquée, mais en faisant varier la dose de formol employée, depuis  $\frac{1}{1000}$  jusqu'à 5 c. c. Cet excès considérable d'aldéhyde formique a simplement pour effet *d'accélérer le phénomène* de l'insolubilisation, mais il n'influe pas sensiblement sur le poids de la matière insolubilisée.

Poids de formaldéhyde employée.

0<sup>cr</sup>,010

0<sup>cr</sup>,020

0<sup>cr</sup>,050

1<sup>cr</sup>,500

Mat. albuminoïde insolubilisée.

38<sup>cr</sup>,439

38<sup>cr</sup>,427

38<sup>cr</sup>,431

38<sup>cr</sup>,429

#### CONCLUSIONS

Nous concluons donc de l'ensemble de ces résultats : que la matière albuminoïde du lait est entièrement séparée ; que sa

composition élémentaire correspond à celle de la caséine considérée comme pure; enfin que sa transformation par la formaldéhyde ne fait pas varier sensiblement son poids.

\* \* \*

Nous pensons que cette méthode, après ces contrôles multipliés, présente des garanties d'exactitude suffisantes pour légitimer son emploi dans le dosage de la matière albuminoïde des laits.

A ce titre, elle pourra contribuer à la disparition de la pratique défectueuse qui consiste à doser cet élément, le plus important du lait, par la différence du poids des autres éléments avec celui de l'extrait total.

# Des Tropismes du "Bacterium zopfii" Kurth

PREMIÈRE NOTE

PAR LE DR EDMOND SERGENT

Les recherches relatées ci-dessous étaient achevées, lorsque parut une note de Heinrich Zikes : « *Ueber geotaktische Bewegungen des Bacterium zopfii* <sup>1</sup> ».

L'influence de la pesanteur sur les mouvements des Bactéries n'avait été auparavant étudiée que par J. Massart <sup>2</sup>, chez deux spirilles de l'eau de mer, dont l'un possérait un pouvoir géotactique négatif, et l'autre un pouvoir positif (expériences faites en milieu liquide).

Les recherches de Zikes n'ayant pas été entreprises dans le même but que les miennes paraissent devoir être résumées ici :

Après avoir constaté l'influence dans le sens négatif de la pesanteur sur les cultures du *B. zopfii*, notamment en se servant de plateaux tournants, Zikes s'attache surtout à déterminer la vraie nature de cette influence. Se traduit-elle par du géotropisme, au sens de Wiesner <sup>3</sup>: c'est-à-dire un phénomène relevant de la croissance d'un même individu, ou par du géotactisme, c'est-à-dire un phénomène présenté par des organismes séparés, libres et mobiles? Une observation microscopique prolongée d'une même culture permet à Zikes de conclure au géotactisme. A noter encore que certaines parties des cultures n'obéissent pas à ce géotactisme; que dans une expérience élégante, en renversant à plusieurs reprises, à deux jours de distance, le vase de culture, Zikes a pu obtenir une culture en zigzag, et qu'il a observé du géotactisme dans des milieux liquides (bouillon).

\*\*\*

Mes expériences, orientées dans une toute autre direction, ont été instituées dans les conditions suivantes :

Le *Bacterium zopfii*, coccobacille isolé de l'eau, est bien connu depuis les travaux devenus classiques dont il a été l'objet de la part de H. Kurth <sup>4</sup>, qui a démontré, grâce à lui, le pléomorphisme des bactéries. Ce *Bacterium*,

1. Communiquée à l'Académie des Sciences de Vienne, séance du 1<sup>er</sup> février 1906. *Sitzungsberichten, math.-naturw. Klasse*, t. CXV, p. 4, 1906.

2. Recherches sur les organismes inférieurs, *Bull. de l'Acad. roy. de Belgique*, 3<sup>e</sup> série, t. XXII, 1891, p. 148.

3. *Anatomie und Physiologie der Pflanzen*, 4<sup>e</sup> éd., p. 309.

4. Ein Beitrag zur Kenntnis der Morphologie und Physiologie der Spaltpilze, *Botanische Zeitung*, t. XLI, 1883, pp. 369, 393, 409, 425.

ensemencé en strie à la surface d'un tube de gélatine incliné, donne, si le tube est maintenu vertical, une culture remarquable par son aspect de plume d'Oiseau, à barbules parallèles toujours dirigées vers le haut, formant un angle de  $45^\circ$  avec la verticale (figure 1). Si le tube de gélatine inclinée est maintenu horizontal, cet aspect n'existe pas, la culture se fait sous forme d'arborisations enchevêtrées, dirigées dans tous les sens. Ce dernier aspect est le seul que connaît Kurth qui faisait ses cultures dans des vases



Fig. 1.



Fig. 2.

tenus horizontaux. La culture en plume est propre à la gélatine; sur gélose, il ne se développe que des arborisations.

La partie axiale de la culture en strie est composée d'amas de colonies à l'aspect de perles, et constituées par des cocci; les barbules latérales ne comprennent que des éléments bacillaires.

Dans des cultures âgées, en particulier dans des tubes renversés, il se développe une seconde culture filamentuse, dirigée en sens inverse de la première, et formée de barbules plus grêles, plus flexueuses. Zikes a vu cette seconde culture, mais ne lui a observé aucun caractère géotactique, tandis que par l'examen à l'œil nu et surtout au microscope binoculaire, j'ai pu souvent constater sa direction vers le bas. La figure 3 représente le même tube vu sous deux incidences, et montrant ainsi ces deux sortes de cultures filamentuses.

Le *B. Z.* dont je me suis servi provient de la collection du Dr J. Binot, à l'Institut Pasteur.

Sauf indication différente, les tubes sont maintenus debout, la surface de la gélatine étant verticale. Bouillon gélatiné ordinaire. Pas de capuchons de caoutchouc. Tubes de 16 millimètres ou de 20 millimètres de diamètre (mêmes résultats). Culture à 24°.

\* \*

I. — Le premier coup d'œil jeté sur une culture de *B. Z.* sur gélatine éveille l'idée d'un géotropisme négatif (figure 4).

II. — À la réflexion, la constance de l'angle de 45° formé avec



Fig. 3.

la verticale, par la direction des pennules, suggère l'hypothèse d'une autre force agissant en même temps que la pesanteur et en sens différent, sur la Bactérie (par exemple, une force à attraction horizontale d'intensité égale à celle de la pesanteur, si du moins on peut appliquer à une culture bactérienne la loi du parallélogramme des forces). Cette idée est fortifiée par la vue de tubes comme celui de la figure 2, où, la strie présentant des solutions de continuité, les pennules conservent cependant partout la même direction parallèle, sans profiter des espaces libres pour les cultiver, comme cela arriverait si, seule, l'action de la pesanteur les sollicitait.

\* \*

I. — Le premier problème consiste dans la vérification de la réalité de l'action de la pesanteur.

A. La culture en plume est obtenue régulièrement dans des séries de tubes maintenus droits, ou renversés, verticaux. Elle manque toujours dans les tubes maintenus horizontaux.

B. *Éliminer l'action de l'air.* Les mêmes séries, faites avec des tubes capuchonnés ou non, provoquent les mêmes constatations.

C. *Éliminer l'action de la lumière.* Mêmes séries dans une boîte métallique, vernie, noire, hermétiquement close. Mêmes résultats.

D. *Tubes spéciaux.* Des tubes de culture furent préparés, dans lesquels la gélatine est de même épaisseur du haut en bas, et où l'air entre par les deux extrémités (figure 4). Mêmes séries, compliquées de capuchonnages alternatifs de l'un et l'autre bouts. Mêmes résultats.

E. A titre d'indication : des tubes ordinaires de gélatine, maintenus inclinés à 45° sur la verticale (fig. 5). donnent des cultures en plume typiques.

Donc, *géotropisme (ou géotactisme) négatif.*

\*\*

II. — La démonstration qu'une seconde force agit pour donner aux pénicules leur direction oblique, formant un angle de 45° avec la verticale, peut résulter, m'a-t-il semblé, de la découverte des conditions nécessaires pour que la culture obéisse seulement à l'action de la pesanteur, c'est-à-dire donne des filaments tout à fait verticaux. La preuve que l'on a supprimé l'action d'une force contrariant l'effet de la pesanteur entraîne Fig. 4. d'elle-même la preuve de l'existence de cette force.

Les conditions susceptibles d'éliminer l'action de cette deuxième force sont remplies par la culture en boîte de Roux tenue verticale.

Un demi-litre de gélatine est coulé sur le grand côté de cette boîte; et fait prise, sa surface étant inclinée, comme dans un tube ordinaire. La figure 6 montre une telle boîte vue de profil.

La figure 7, représentant la même boîte vue de face, met en évidence que la culture est verticale absolument, de chaque côté de la strie, et forme une infinité de rayures parallèles. Puis, au bout de 6 à 7 jours, la culture s'étant approchée à 2 centimètres en moyenne des bords de la surface nutritive, les

1. La boîte de Roux est une bouteille aplatie en prisme rectangulaire. Dimensions : 22 cm  $\times$  12 cm  $\times$  5 cm. Le goulot a 29 mm de diamètre.



pennules obliques, et s'inclinent à 45° vers le verre. A la partie inférieure de la strie, à quelques centimètres du fond de la boîte, les pennules ne sont jamais verticales, mais d'emblée



Fig. 5.

horizontales, et couvrent ainsi toute la portion basale de la gélatine de rayures horizontales et bien parallèles.

*Remarque.* — Dans bien des cas, les filaments verticaux cheminent non seulement vers le haut, mais aussi vers le bas, le sens semble indifféremment *positif* ou *négatif*, mais reste toujours rigoureusement *vertical*.

Mêmes résultats, si la boîte est maintenue renversée, le goulot en bas (strie verticale).

Mêmes résultats, si la boîte est maintenue couchée sur une face latérale (strie verticale)<sup>4</sup>.

*Témoin* : Si la boîte est tenue couchée à plat, la surface de la gélatine étant horizontale, arborisations en tous sens.

La verticalité des rayures ne tient pas à la grande abondance du substratum nutritif, car si l'on fait se solidifier un demi-litre de gélatine en pente inclinée, sur une face latérale de la boîte (figure 9), la strie tracée au milieu d'une surface de 5 centimètres de largeur (le bloc de gélatine ayant jusqu'à 5 centimètres de profondeur) donne une culture en plume typique. Mêmes résultats avec une boîte semblable renversée.

*Donc, tout se passe comme si le voisinage des parois de verre, ou*

4. A titre d'indication : dans les boîtes de Pétri, les choses se passent d'une façon analogue (figure 8).

*du bord de la surface de la gélatine, exerçait une attraction d'intensité égale à celle de la pesanteur, et dont les effets se font sentir à plusieurs centimètres.*

En haut, les bords sont horizontaux et supérieurs, cette action s'ajoute à celle de la pesanteur : les pennules sont verticales.

Latéralement, les bords sont verticaux, la direction de la 2<sup>e</sup> force forme un angle de 90° avec celle de la pesanteur : les pennules montent vers le haut sous un angle de 45°.

En bas, les bords sont horizontaux et inférieurs, la direction de la 2<sup>e</sup> force prend un sens absolument opposé à celui de la pesanteur, les deux actions s'annihilent : les pennules, sollicitées seulement par l'attraction des bords latéraux, cheminent horizontalement.



Fig. 6.

\* \*

Les mêmes constatations peuvent être provoquées par d'autres expériences :

A. En immergeant dans la gélatine des tubes à essai stériles, verticaux, faisant saillie de quelques millimètres. La strie étant dessinée parallèlement au tube, la culture part, du côté opposé au tube, en rayures verticales, mais, du côté du tube, en pennules à 45° (figure 10).

A noter encore ici que les rayures sont toujours à 45° avec la verticale, mais montent ou descendent. La culture ayant gagné, par-dessus ou par-dessous, l'autre côté du tube, repart en surface, toujours à 45°, montant ou descendant.

On peut rapprocher de ce fait que si l'on ensemence en strie, le *long du bord* de la surface en boîte de Roux (figure 11), les pennules se détachent à 45°, mais tantôt vers le bas, tantôt vers le haut.

*On peut conclure de la constatation de cette première catégorie de faits que l'attraction exercée par les bords sur la culture est du même ordre que celle qu'exerce une élévation quelconque sur cette culture. Il faut donc faire rentrer l'action des bords, cas particulier, dans le cadre des actions des élévures en général. Les expériences suivantes confirment cette manière de voir.*

B. On peut produire des élevures irrégulières à la surface de la gélatine, en y déposant, lorsqu'elle est déjà solidifiée, quelques gouttes de gélatine dessinant des mamelons ou des chaînes. Les pennules sont attirées par ces élevures lorsqu'elles

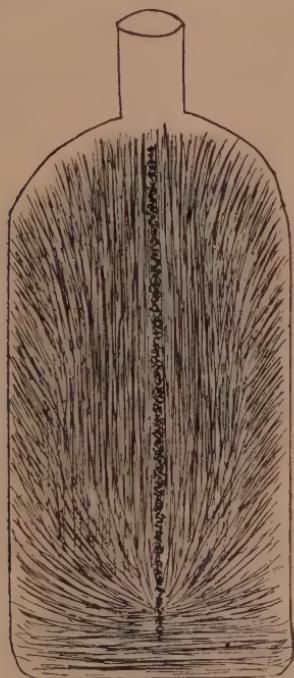


Fig. 7.

arrivent dans leur voisinage, et, de verticales, elles deviennent obliques à 45° vers elles.

C. Proposition inverse : puisque les élevures semblent attirer les filaments du B. Z., comment ceux-ci vont-ils se comporter sur une surface *convexe* ? Une surface convexe régulière de gélatine fut obtenue en décollant le bloc de gélatine formé quand celle-ci fait prise, dans une boîte de Roux couchée sur une face latérale, face grossièrement semi-cylindrique (figure 9). Ce bloc, décollé par chauffage et liquéfaction de la couche superficielle de la gélatine, est renversé brusquement sous l'eau froide, de façon à adhérer au verre par sa face plane, la face semi-cylindrique devenant libre (figure 12). La strie est tracée suivant la ligne faîtière du bloc. Il ne se produit pas de filaments

à la surface, mais seulement des cultures en perles (Cocci) qui donnent des pennules obliques à 45° vers le haut. C'est le seul cas où des cultures en perles aient un aspect de plume. *A l'intérieur de la gélatine* se développent, tardivement, des filaments dirigés à 45° vers le haut.

D. Enfin, quand la surface de la gélatine est *irrégulière*,

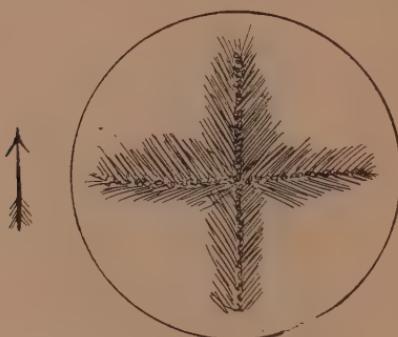


Fig. 8.

chose facile à produire, les stries verticales ne donnent plus la culture caractéristique, les rayures dessinées par les filaments se dirigent vers les élevures les plus proches.

Avec la culture en boîte de Roux, sur surface régulière d'un demi-litre de gélatine, nous avions éliminé toutes les autres forces, de façon à laisser à la pesanteur seule l'occasion de manifester son action.

Dans les mêmes conditions, mais avec une surface irrégulière, on constate l'effet d'attractions multiples développées par le voisinage des élevures. La pesanteur est ici la force dont on discerne le moins l'action. Nous possédons ainsi deux cas extrêmes.

*En dehors du tropisme commandé par la pesanteur, le B. Z. obéit donc à des tropismes provoqués par des forces qui semblent conditionnées par le voisinage d'élevures de la surface de la gélatine.*

\*\*\*

*La culture du B. Z. peut être soustraite aux tropismes dont nous venons de constater l'existence, et sensibles : 1° à l'action de la pesanteur ; 2° à celle des élevures.*

I. — *Influence de la température sur les tropismes.*

Toutes les cultures ont poussé jusqu'ici à 24°. Si on laisse les tubes de culture à la température du laboratoire (15° à 20°), on constate que la culture verticale (fort lente) se fait comme la culture horizontale, par arborisations, que n'influencent ni la pesanteur ni le voisinage des bords.

II. — *Influence de l'absence d'air.*

Le B. Z. est très avide d'oxygène. Des tubes de gélatine



Fig. 9.

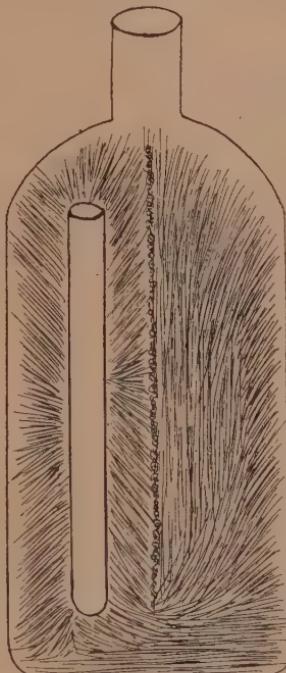


Fig. 10.

inclinée, dans lesquels le vide a été opéré, donnent des cultures très grèles, en arborisations, sans aucune tendance à la formation de penne.

Contre-épreuve : au bout de 8 jours d'étuve à 24°, le tube effilé qui traverse le bouchon de l'un de ces tubes est brisé : l'air qui rentre ainsi permet à la culture de s'épanouir en plume en deux jours.

III. — *Influence de l'abondance du substratum nutritif.*

On a vu plus haut que cette abondance, à partir d'un certain degré, n'est pas plus favorable à l'action de la pesanteur qu'à celle de toute autre cause de tropisme. Mais, au-dessous d'un certain degré, elle produit un effet marqué.

Si, au lieu d'un demi-litre de gélatine, on n'en verse sur le grand côté d'une boîte de Roux que 60 à 70 c. c., l'épaisseur de



Fig. 11.

la couche est très mince et se chiffre par quelques millimètres. Dans ces conditions, la *culture verticale* se fait en arborisations en tous sens, et ne peut pas se distinguer d'une culture horizontale : ni l'action de la pesanteur ni celle des élevures ne se font sentir. Peut-être peut-on interpréter ce résultat par l'influence, à travers la mince couche de gélatine, du voisinage de la paroi de verre.

Les mêmes arborisations sont obtenues à la surface de la gélatine de tubes d'Esmarch : 1 à 2 c. c. de gélatine répartis sur la surface interne d'un tube à essai, dans lequel ils inscrivent un cylindre d'épaisseur très faible.

Enfin des cultures faites en boîtes de Morax, tenues verticales, donnent des aspects frappants. Le fond de ces boîtes est bombé à la partie médiane, de sorte que la couche de gélatine y est plus mince. En dessinant trois stries d'ensemencement à la

surface de la gélatine, on obtient deux pennes avec les stries latérales sur gélatine profonde, et des arborisations avec la strie médiane, sur gélatine mince (figure 13).

IV. — *Influence de la richesse nutritive du substratum, et de sa teneur en gélatine.*

Des essais ont été tentés avec cinq préparations différentes de gélatine :

|               | (1)   | (2)           | (3)   |
|---------------|-------|---------------|-------|
| Bouillon..... | 1,000 | Eau.....      | 1,000 |
| Sel.....      | 5     | Sel.....      | 5     |
| Peptone.....  | 40    | Peptone.....  | 40    |
| Gélatine..... | 130   | Gélatine..... | 80    |

|               | (4)   | (5)           |       |
|---------------|-------|---------------|-------|
| Bouillon..... | 1,000 | Bouillon..... | 1,000 |
| Sel.....      | 5     | Sel.....      | 5     |
| Peptone.....  | 40    | Peptone.....  | 40    |
| Gélatine..... | 80    | Gélatine..... | 180   |

Pas de différence notable, sauf pour la formule n° 3 ; la

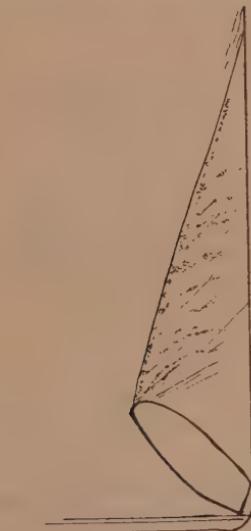


Fig. 12.

culture sur cette gélatine pauvre part en retard, et revêt surtout la forme de perles (Cocci)<sup>1</sup>. Finalement, la culture en plume y est aussi typique que sur les autres gélatines. A noter la présence de perles au milieu des filaments des barbules.

1. KURTH avait déjà vu que sur les milieux épuisés, les Cocci dominaient.

On peut donc dire, d'une façon générale, que les tropismes du *B. Z.* sont favorisés par les mêmes causes qui sont propices à la végétabilité de cette bactérie.

\* \*

Il convient de remarquer, en terminant, que les tropismes complexes du *B. zopfii* constituent un caractère de plus, qui apparaît chez les bactériacées aux végétaux.

\* \*

Ces recherches étaient terminées, lorsque parvint à ma connaissance le mémoire de L. Errera, *Sur l'hygroscopicité comme cause de l'action physiologique à distance découverte par Elsving*<sup>1</sup>.

« Fr. Elsving<sup>2</sup> avait été amené à étudier l'action de divers métaux sur

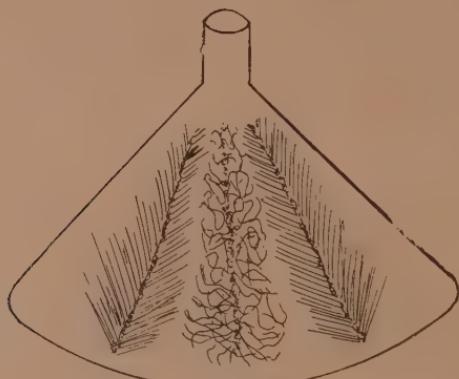


Fig. 13.

la croissance d'une mucorinée : *Phycomyces nitens*, dont le géotropisme négatif est, d'autre part, bien connu. Elsving fixe le morceau de métal à examiner au-dessus d'une culture du champignon sur pain, de telle sorte que les filaments sporangifères, en continuant leur croissance, devaient environner le métal. L'action des métaux, lorsqu'il y en a une, se manifeste sous forme d'attraction, c'est-à-dire que, de toutes parts, les filaments se courbent en décrivant vers le métal un arc plus ou moins prononcé. Le fait inattendu, découvert par Elsving, c'est que le fer exerce une attraction remarquablement plus forte que tous les autres corps. »

1. *Recueil de l'Institut botanique*, t. VI, pp. 303-366, Bruxelles, 1906.

2. *Ueber physiologische Fernwirkung einiger Körper*, Helsingfors, 1890, et : Sur une action directrice qu'exercent certains corps sur les tubes sporangifères de *Phycomyces nitens*, *Annales de l'Institut Pasteur*, février 1891, pp. 101-104.

D'après Errera, « dans les phénomènes découverts par Elfving, l'agent inconnu qui attire ou repousse est tout simplement la vapeur d'eau. Le *Phycomyces* se courbe vers les corps qui attirent l'humidité (parmi lesquels le fer rugueux tient le premier rang), et s'écarte de ceux qui en dégagent <sup>1</sup> ».

L'influence des élevures sur le B. Z. relève-t-elle de phénomènes dus à l'hygroscopicité, ou d'autres causes ? Telle est la question qu'il reste à examiner dans un prochain travail.

1. L. ERRERA propose de donner le nom de *tropismes* « aux diverses facultés du protoplasma vivant, de ressentir les asymétries dans la distribution des agents extérieurs et d'y répondre par des courbures d'une direction déterminée ». Les tropismes ne sont pas les mouvements effectués, mais les facultés mêmes anisées en jeu dans l'être animé.

---

# Contribution à l'étude des sérum hémolytiques

---

## Le dosage des substances actives dans les sérum hémolytiques

PAR L. RÉMY

Docteur ès sciences et en médecine,  
Chef du service bactériologique à l'Institut chimique et bactériologique  
de l'Etat à Gembloux (Belgique).

---

Dans un précédent mémoire, nous avons établi que le sérum hémolytique et ses substances actives s'unissent aux globules rouges conformément aux lois suivantes :

1<sup>o</sup> En présence d'une quantité suffisante de globules rouges et de sérum hémolytique, l'intensité du phénomène d'hémolyse (nombre de globules détruits) est proportionnelle aux doses de sérum intervenues dans la réaction;

2<sup>o</sup> En présence d'une quantité suffisante de globules rouges et d'un excès de l'un des deux constituants du sérum (alexine ou sensibilisatrice), l'intensité du phénomène d'hémolyse (nombre de globules détruits) est proportionnelle aux doses que l'on a employées de l'autre constituant;

3<sup>o</sup> En présence d'une quantité suffisante de globules rouges et de la dose minimum des deux constituants du sérum capable de provoquer la dissolution des globules rouges, l'intensité des phénomènes d'hémolyse (nombre de globules détruits) est proportionnelle aux doses que l'on fait intervenir de l'autre constituant. Ainsi si 1 A et 1 S sont les doses minima d'alexine et de sensibilisatrice qui peuvent provoquer la globulolyse, en maintenant constante la quantité minimum d'alexine 1 A, l'intensité du phénomène d'hémolyse augmentera proportionnellement aux doses 2 S, 3 S, etc., qui figureront dans la réaction, et réciproquement..

En résumé : 1<sup>o</sup> une quantité constante de sérum hémolytique détruit toujours une quantité constante de globules rouges; 2<sup>o</sup> la dose hémolsante la plus faible de l'un des deux constituants du sérum s'unit à l'autre en proportions variables pour donner le phénomène d'hémolyse.

Dans le présent mémoire nous nous proposons de recher-

cher si l'application de ces lois nous conduira au dosage des substances actives des sérum hémolytiques.

*A priori*, il est évident que chacune de celles-ci peut nous permettre de résoudre le problème. En effet, quand on veut doser l'une des deux substances actives d'un sérum, la sensibilisatrice par exemple, on fait réagir sur des globules rouges des doses variables de cette substance, en présence d'une quantité constante d'alexine. Si, comme quantité constante d'alexine, on en emploie un excès, on applique la deuxième loi; si, au contraire, la quantité constante d'alexine est représentée par la dose minimum active de cette substance, c'est la troisième loi qui entre en jeu.

Comme la détermination de la dose minimum active des constituants du sérum est une opération parfois très longue et toujours très délicate, tandis que l'emploi d'un excès est au contraire une opération simple et rapide, c'est à l'application de la deuxième loi que nous nous adresserons, quand faire se pourra, pour doser les substances actives des sérum hémolytiques.

Le dosage des substances actives des sérum repose donc sur le fait, qu'en présence d'une quantité constante (excès ou minimum) de l'un des deux constituants, l'intensité du phénomène d'hémolyse est proportionnelle aux doses que l'on a employées de l'autre constituant du sérum. La constance de ce rapport présente-t-elle une portée générale ou ne s'exerce-t-elle que dans certaines limites expérimentales? Il est évident que l'hémolyse naturelle que produisent certains sérum neufs, vis-à-vis des globules rouges d'espèces différentes, est de nature à troubler ce rapport. Le problème se complique donc, suivant que l'on opère avec des sérum qui, normalement, sont ou ne sont pas hémolytiques pour les globules que l'on a injectés aux animaux. Deux cas peuvent donc se présenter :

Dans le premier cas, le sérum normal de l'animal vacciné était, avant la vaccination, sans action sur les hématies qu'on lui a injectées.

Dans le second cas, le sérum normal de l'animal vacciné dissolvait déjà, avant la vaccination, les globules injectés.

Le sérum normal de l'animal vacciné était, avant la vac-

cination, sans action sur les hématies qu'on lui a injectées.

Le sérum de cobaye vacciné contre le sang de lapin rentre dans cette première catégorie; on sait en effet que le sérum normal de cobaye conserve généralement bien les globules rouges de lapin. Nous nous trouvons donc dans les conditions les plus favorables pour étudier les modifications que subissent les constituants du sérum de cobaye, au cours de l'immunisation de cet animal contre les globules rouges de lapin.

La quantité de substances actives augmente-t-elle progressivement avec le nombre d'injections de globules rouges? Telle est la question que nous allons tâcher d'élucider. Pour la résoudre, il nous suffira de doser l'alexine et la sensibilisatrice, dans une quantité égale de sérum de cobaye ayant reçu 3-6-12 injections de sang lapin, et de comparer les doses trouvées entre elles aux doses que contient le sérum de cobaye neuf pris comme témoin.

#### *A. — Dosage de l'alexine.*

L'alexine varie-t-elle dans le sérum de cobaye ayant reçu 3-6-12 injections de sang de lapin?

Pour répondre à cette question, dosons la quantité d'alexine qui se trouve dans 0,2 c. c. de sérum alexique de chacun des cobayes vaccinés, comparativement à celle qui existe dans 0,2 c. c. de sérum alexique de cobaye neuf.

1<sup>o</sup> Cobaye ayant reçu 3 injections. Deux tubes I. II reçoivent: le premier 0,2 c. c. de sérum alexique de cobaye vacciné et 5,6 c. c. de sang de lapin désébriné, lavé et dilué (45 c. c. sang + 85 c. c. eau physiologique).

Dans le tube II, on introduit 0,2 c. c. sérum alexique de cobaye neuf, 0,2 c. c. de sensibilisatrice de cobaye 3 injections (sérum chauffé à 56-57° de ce cobaye) et 5,4 c. c. de la dilution de sang ayant servi pour le tube I. Ces deux tubes contiennent donc chacun la même dose de sensibilisatrice fournie par le cobaye ayant reçu 3 injections de sang de lapin, un léger excès de globules rouges donnés par le sang de lapin, seule l'alexine 0,2 c. c. est d'origine différente; elle provient, dans le tube I, du cobaye lapin 3 injections; dans le tube II, du cobaye neuf. L'intensité du phénomène d'hémolyse dépendra donc unique-

ment de la dose d'alexine contenue dans les 0,2 c. c. de sérum alexique que l'on a mis dans la réaction.

On agit de la même façon avec les cobayes ayant reçu 6-12 injections de sang de lapin et on prépare ainsi les tubes III et IV, V et VI dans les mêmes conditions que les tubes I et II. On agite ces tubes et on les porte à l'étuve 36-37° pendant 2 heures. On centrifuge et on prélève de chacun des tubes 2 ou 4 c. c., que l'on dilue dans 50 c. c. d'eau physiologique. On détermine alors, à l'aide du colorimètre, le pouvoir colorant de ces différentes solutions. Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau suivant :

| N°<br>d'ordre<br>des<br>Tubes                    | QUANTITÉ<br>et origine de<br>l'Alexine | QUANTITÉ<br>et origine de la<br>Sensibilisatrice           | QUANTITÉ<br>ajoutée de sang<br>dilué de lapin | QUANTITÉ<br>totale de liquide<br>hémolytique | HAUTEUR<br>de la colonne<br>quand les teintes<br>sont identiques |
|--|--|--|---|--|--|
| COBAYE NEUF TÉMOIN                               |  |  |   |  |  |
| I  | 0, 2 sér : al. cob.<br>neuf            | néant  | 5,6 dilué 45 %                                | 5,8  | pas d'hé-<br>molyse.   |
| COBAYE AYANT REÇU 3 INJECTIONS DE SANG DE LAPIN  |  |  |   |  |  |
| I  | 0, 2 sér : al. cob.<br>lap. : 3 inj.   | contenue dans les<br>0, 2 de sér. al.<br>cob. lap. 3 inj.  | 5,6 dilué 45 %                                | 5,8  | 65   |
| II   | 0, 2 sér : al. cob.<br>neuf.           | 0, 2 sér. chauf. :<br>cob. lap. 3                          | 5,4 — —                                       | 5,8  | 45   |
| COBAYE AYANT REÇU 6 INJECTIONS DE SANG DE LAPIN  |  |  |   |  |  |
| I  | 0, 2 sér : al. cob.<br>lap. 6 inj.     | contenue dans les<br>0, 2 de sér. al.<br>cob. lap. 6 inj.  | 5,6 dilué 45 %                                | 5,8  | 53   |
| II   | 0, 2 sér. al : cob.<br>neuf.           | 0, 2 sér. chauf.<br>cob. lap. 6 inj.                       | 5,4 — —                                       | 5,8  | 60   |
| COBAYE AYANT REÇU 12 INJECTIONS DE SANG DE LAPIN |  |  |   |  |  |
| I  | 0, 2 sér : al. cob.<br>lap. 12 inj.    | contenue dans les<br>0, 2 de sér. al.<br>cob. lap. 12 inj. | 5,6 dilué 45 %                                | 5,8  | 75   |
| II   | 0, 2 sér : al. cob.<br>neuf.           | 0, 2 sér. chauf.<br>cob. 12 inj.                           | 5,4 — —                                       | 5,8  | 75   |

Avant de discuter les résultats contenus dans ce tableau,

rappelons d'abord que, dans les conditions expérimentales où nous sommes placés, l'intensité du phénomène d'hémolyse est proportionnelle à la dose d'alexine et à la teinte du liquide hémolytique. Or la teinte du liquide hémolytique est inversement proportionnelle à la hauteur que possèdent les colonnes de liquide contenu dans les éprouvettes, lorsque celles-ci donnent au colorimètre des colorations identiques; il en résulte que la dose d'alexine est, pour chacun des tubes, inversement proportionnelle aux nombres de la 6<sup>e</sup> colonne. En outre, pour chacun des cobayes 3-6-12 injections, nous avons comparé chaque fois la dose d'alexine contenue dans 0,2 de sérum alexique à celle qui se trouve dans 0,2 de sérum alexique cobaye neuf. Comme nous avons, pour chacun des cobayes, pris comme terme de comparaison le liquide le moins coloré, et que celui-ci était figuré tantôt par le sérum cobaye neuf, tantôt par le sérum cobaye vacciné, les chiffres donnés par les tubes I, III; V, ne sont pas comparables entre eux. Si on établit le rapport qui existe entre la quantité d'alexine contenue dans 0,2 de sérum des cobayes neufs et vaccinés, on obtient :

Cobaye 3 injections : Les quantités d'alexine contenues dans 0,2 de sérum alexique de ce cobaye et du cobaye neuf sont inversement proportionnelles au nombres 65 et 43, c'est-à-dire que lorsque 0,2 de sérum alexique cobaye neuf contiennent 1,02, de sérum alexique cobaye 3 injections contiennent  $43/65 = 0,69$ .

Cobaye 6 injections : 0,2 sérum alexique donnent au colorimètre 53 et 0,2 de sérum alexique cobaye neuf. D'où, lorsque 0,2 de sérum alexique cobaye neuf possèdent 1,02 de sérum alexique cobaye 6 injections contiennent  $60/53 = 1,13$ .

Cobaye 12 injections : 0,2 c. c. sérum alexique de ce cobaye, de même que 0,2 de sérum cobaye neuf, marquent au colorimètre 75 millimètres. Il en résulte que :

Lorsque 0,2 sérum cobaye neuf contiennent 1,02 sérum cobaye 3 injections contiennent 0,69 ; 0,2 sérum cobaye 6 injections contiennent 1,13 ; 0,2 sérum cobaye 12 injections contiennent 1,00.

Une seconde expérience a donné les chiffres suivants :

Quand 0,2 sérum alexique cobaye neuf contiennent 1,02 sérum alexique cobaye neuf 3 injections contiennent 1,6 ; 0,2 sérum alexique cobaye neuf 6 injections contiennent 1,0 ; 0,2 sérum alexique cobaye neuf 12 injections contiennent 1,0.

Une troisième expérience a fourni les chiffres suivants :

Quand 0,2 sérum alexique cobaye neuf contiennent 1,02 sérum alexique cobaye neuf 3 injections contiennent 0,6 ; 0,2 sérum alexique cobaye neuf 6 injections contiennent 0,46 ; 0,2 sérum alexique cobaye neuf 12 injections contiennent 1,00.

L'examen des résultats obtenus dans ces trois expériences nous montre que la quantité d'alexine n'augmente pas avec le nombre d'injections, sinon elle serait toujours plus élevée chez les cobayes ayant reçu 6-12 injections que chez les cobayes auxquels on n'a pratiqué que 3 injections.

Il est vrai que, pour pouvoir admettre cette manière de voir, il conviendrait de doser l'alexine, chez le même cobaye, avant et après l'immunisation. Bien que cette question de la variation de la quantité d'alexine au cours de l'immunisation ne soit que d'importance secondaire, puisque cette substance n'est pas spécifique, nous avons réalisé une expérience en éliminant les causes qui pouvaient troubler les résultats fournis par les expériences précédentes.

Deux cobayes A et B, de même âge, 4 mois, et de même poids, 400 grammes environ, sont saignés à la carotide et l'alexine est dosée dans leur sérum comme suit : cobaye A, à 0,2 de sérum alexique de ce cobaye nous ajoutons 0,3 de sérum chauffé cobaye lapin 6 injections et 5,4 de sang lavé et dilué (12 c. c. sang + 88 eau physiologique).

Cobaye B, on opère comme en A, seulement on emploie 0,2 de sérum alexique cobaye B. Après deux heures à l'étuve 36-37° on centrifuge et on dose comparativement, au colorimètre, la quantité d'alexine contenue dans 0,2 c. c. de sérum des cobayes A et B. Quand les teintes sont identiques, on constate qu'une colonne de 80 millimètres de hauteur B donne la même teinte qu'une colonne de 65 millimètres de hauteur A. Si B contient 1 d'alexine, A contient donc  $80/65 = 1,23$ . Quelques jours après, nous injectons au cobaye A 5 c. c. de sang défi-briné de lapin. Le cobaye B sert de témoin et n'est pas injecté. Quand A a reçu 4 injections de sang de lapin, espacées de 8 en 8 jours, nous saignons les cobayes B et A dix jours après la dernière injection. Nous dosons l'alexine comme suit :

Cobaye A, 0,2 de sérum alexique sont ajoutés à 5,6 c. c. de

sang de lapin désébriné, lavé et dilué (12 c. c. sang + 88 eau physiologique). Cobaye B, à 0,2 c. c. de sérum alexique, on ajoute 0,2 c. c. de sérum chauffé à 56° de cobaye A (sensibilisatrice) et 5,4 c. c. sang dilué lapin comme pour A. Après 2 heures de séjour à l'étuve 36-37°, l'examen au colorimètre fournit les chiffres suivants : A = 80, B = 65.

B servant de témoin = 1, A donne alors  $65/80 = 0,81$ . Avant l'injection, quand la quantité d'alexine dans le témoin B était figurée par 1, la teneur en alexine du sérum du cobaye A était représentée par 1,23. Après l'injection, la dose d'alexine du témoin B (non injecté) restant 1, celle du cobaye A tombe à 0,81. La dose d'alexine du cobaye A, qui était de 1,23 avant les injections, est donc descendue à 0,81 après celle-ci. Nous sommes donc autorisé à admettre que, dans le cas présent, les injections de sang de lapin ont fait baisser la teneur en alexine du sérum de cobaye.

\* \*

B. — *Dosage de la sensibilisatrice dans le sérum des cobayes ayant reçu 3-6-12 injections de sang de lapin.*

Pour doser la sensibilisatrice du sérum de ces cobayes, on chauffe celui-ci à 56-57° pendant 35-40 minutes, puis, à une dose constante de sérum alexique cobaye neuf, on ajoute des doses croissantes du sérum chauffé de chacun des trois cobayes A, B, C.

Quatre tubes AI<sup>1</sup>, AI<sup>2</sup>, AI<sup>3</sup>, AI<sup>4</sup> reçoivent chacun 0,5 c. c. de sérum alexique cobaye neuf et respectivement 0,1 c. c., 0,2 c. c., 0,3 c. c., etc. de sérum chauffé cobaye A (3 injections).

Huit autres tubes BI<sup>1</sup>, BI<sup>2</sup>, BI<sup>3</sup>, BI<sup>4</sup>, CI<sup>1</sup>, CI<sup>2</sup>, CI<sup>3</sup>, CI<sup>4</sup> reçoivent la même quantité d'alexine et les mêmes doses de sérum chauffé que ci-dessus du cobaye B (6 injections) ou du cobaye C (12 injections). On leur ajoute ensuite des quantités convenables et respectivement égales de globules rouges lavés et dilués (12 c. c. sang + 88 eau physiologique). On agite et on place à l'étuve 36-37°. Deux heures après on centrifuge et on dose, à l'aide du colorimètre, l'intensité du phénomène d'hémolyse. Le résultat de ces expériences est résumé dans le tableau suivant :

| NUMÉROS<br>des tubes                                       | QUANTITÉS<br>de sérum<br>alexique<br>cob. neut | QUANTITÉS<br>de sérum<br>chauffé<br>cob. lapin. | QUANTITÉS<br>ajoutées<br>de sang<br>dilué<br>de lapin | QUANTITÉ<br>totale<br>de<br>liquide<br>hémolytique | HAUTEUR<br>de la colonne<br>quand les éprou-<br>vettes donnent<br>des<br>teintes identiques |
|--|--|---|---|--|---|
| <b>A. COBAYE AYANT REÇU 3 INJECTIONS DE SANG DE LAPIN</b>  |  |   |   |  |   |
| AI <sup>1</sup>  | 0,5  | 0,1 cob.-lap.,<br>3 inj.                        | 5,2 dilué 12 %  | 5,8  | 78  |
| AI <sup>2</sup>  | 0,5  | 0,2 cob.-lap.,<br>3 inj.                        | 5,1 — —   | 5,8  | 39  |
| AI <sup>3</sup>  | 0,5  | 0,3 cob.-lap.,<br>3 inj.                        | 5 dilué 15 %  | 5,8  | 23  |
| AI <sup>4</sup>  | 0,5  | 0,4 cob.-lap.,<br>3 inj.                        | 4,9 — —   | 5,8  | 18  |
| <b>B. COBAYE AYANT REÇU 6 INJECTIONS DE SANG DE LAPIN</b>  |  |   |   |  |   |
| BI <sup>1</sup>  | 0,5  | 0,1 cob.-lap.,<br>6 inj.                        | 5,2 dilué 12 %  | 5,8  | 45  |
| BI <sup>2</sup>  | 0,5  | 0,2 cob.-lap.,<br>6 inj.                        | 5,1 — —   | 5,8  | 7   |
| BI <sup>3</sup>  | 0,5  | 0,3 cob.-lap.,<br>6 inj.                        | 5 dilué 15 %  | 5,8  | 5   |
| BI <sup>4</sup>  | 0,5  | 0,4 cob.-lap.,<br>6 inj.                        | 4,9 — —   | 5,8  | 4   |
| <b>C. COBAYE AYANT REÇU 12 INJECTIONS DE SANG DE LAPIN</b> |  |   |   |  |   |
| CI <sup>1</sup>  | 0,5  | 0,1 cob.-lap.,<br>12 inj.                       | 5,2 dilué 12 %  | 5,8  | 34  |
| CI <sup>2</sup>  | 0,5  | 0,2 cob.-lap.,<br>12 inj.                       | 5,1 — —   | 5,8  | 17  |
| CI <sup>3</sup>  | 0,5  | 0,3 cob.-lap.,<br>12 inj.                       | 5 dilué 15 %  | 5,8  | 11  |
| CI <sup>4</sup>  | 0,5  | 0,4 cob.-lap.,<br>12 inj.                       | 4,9 — —   | 5,8  | 9   |

En présence d'un excès constant d'alexine et d'une quantité suffisante de globules rouges, l'intensité du phénomène d'hémolyse est proportionnelle aux doses de sensibilisatrice intervenues dans la réaction, pour chacun des trois cobayes A, B, C. Or l'intensité du phénomène d'hémolyse est inversement proportionnelle aux hauteurs 78 millimètres, 45 millimètres, 34 millimètres des colonnes, quand les éprouvettes présentent des teintes identiques au colorimètre. La dose de sensibilisatrice intervenue dans la réaction pour chacun des cobayes A, B, C, est donc inversement proportionnelle aux nombres 78, 45 et 34. Si l'on prend pour terme de comparaison le cobaye 3 injections, nous aurons :

A sérum-cobaye-lapin 3 injections = 78 = 1. — B sérum-cobaye-lapin 6 injections = 15 = 78/15 = 5.2. — C sérum-cobaye-lapin 12 injections = 34 = 78/34 = 2.29.

Il en résulte que si l'on représente par 1 la quantité de sensibilisatrice contenue dans le sérum de cobaye-lapin 3 injections, 5,2 sera la quantité de sensibilisatrice contenue dans le sérum de cobaye-lapin 6 injections et 2,29 sera la quantité de sensibilisatrice contenue dans le sérum de cobaye-lapin 12 injections.

Nous avons entrepris deux nouvelles expériences sur le même modèle que celle que nous venons de rapporter, nous nous contenterons donc d'en donner les résultats finals.

#### EXPÉRIENCE II.

Quand le sérum de cobaye-lapin 3 injections contient 1 de sensibilisatrice, le sérum de cobaye-lapin 6 injections contient 4,8 de sensibilisatrice, le sérum de cobaye-lapin 12 injections contient 1,9 de sensibilisatrice.

#### EXPÉRIENCE III.

Quand le sérum cobaye-lapin 3 injections contient 1 de sensibilisatrice, le sérum de cobaye-lapin 6 injections contient 3,0 de sensibilisatrice, le sérum de cobaye-lapin 12 injections contient 5,0 de sensibilisatrice.

Un simple coup d'œil sur les résultats fournis par les trois expériences nous permet de constater que, chez les cobayes vaccinés contre le sang de lapin, la dose sensibilisatrice est au minimum après 3 injections.

Elle est généralement au maximum après 6 injections, parfois seulement après 12 injections. Après 12 injections, la dose de sensibilisatrice est toujours plus élevée qu'après 3, mais elle est généralement moindre qu'après 6 injections. La quantité de sensibilisatrice augmente donc avec le nombre d'injections, de façon à atteindre un maximum qui s'obtient habituellement après 6 injections. À partir de ce maximum la quantité de sensibilisatrice décroît, mais après 12 injections elle est encore supérieure à celle que l'on constate après 3 injections.

Des différences individuelles se rencontrent donc, dans la production de la sensibilisatrice, chez les cobayes que l'on injecte de sang de lapin, autrement dit plusieurs cobayes qui ont reçu le même nombre d'injections n'ont pas produit la même quantité de sensibilisatrice. Nous nous sommes demandé si ces variations individuelles ne pourraient pas être attribuées au fait que le sérum normal de cobaye neuf hémolysait peu ou point les globules non sensibilisés de lapin. En saignant plusieurs cobayes, nous en avons trouvé deux, l'un A, dont le sérum normal hémolysait les globules rouges non sensibilisés de lapin, l'autre B, dont le sérum normal conservait bien ces mêmes globules. Nous avons alors pratiqué à chacun de ces cobayes, à 8 jours de distance, 4 injections de sang de lapin défibriné et lavé. Dix jours après la dernière injection, nous avons saigné ces deux cobayes et nous avons dosé la quantité de sensibilisatrice que renfermait leur sérum.

Dans un tube A, on introduisait 0,2 c. c. de sérum alexique cobaye neuf et 0,5 c. c. sérum chauffé cobaye A. Dans un autre tube B, on ajoute à 0,2 de sérum alexique du même cobaye neuf, 0,5 de sérum chauffé de cobaye B. Chacun de ces tubes reçoit alors 5,1 c. c. de sang désébriné, lavé et dilué (12 c. c. de sang + 88 eau physiologique). Après 2 heures de séjour à l'étuve, nous avons constaté que des colonnes de 42 millimètres de hauteur (cobaye A) et de 80 millimètres de hauteur (cobaye B) donnaient au colorimètre des teintes identiques. La différence dans l'intensité du phénomène d'hémolyse ne peut dépendre que de la sensibilisatrice, puisque les doses d'alexine et de globules rouges sont les mêmes pour chacun des tubes A et B. Or, l'intensité du phénomène d'hémolyse est proportionnelle à la dose de sensibilisatrice et inversement proportionnelle aux hauteurs 42 et 80, c'est-à-dire que si, après 4 injections, le cobaye B contenait 1 de sensibilisatrice, le cobaye A possédait  $80/42 = 1.9$ . La sensibilisatrice augmente donc beaucoup plus chez le cobaye dont le sérum normal hémolysait les globules non sensibilisés de lapin que chez le cobaye dont le sérum normal conservait bien ceux-ci. Chez le premier cobaye, dont le sérum contenait déjà la sensibilisatrice, les injections ont seulement exalté la production de cette substance, tandis que chez le second, qui n'élaborait pas normalement la sensibilisatrice, la

fonction a dû être créée à la suite des injections, ce qui expliquerait le retard dans l'apparition de la sensibilisatrice chez ce cobaye. De l'ensemble des recherches sur les modifications que subit le sérum des cobayes auxquels on pratique respectivement 3-6-12 injections de sang lapin, nous croyons pouvoir tirer les conclusions suivantes :

1<sup>o</sup> L'alexine hémolytique n'augmente pas au cours de la vaccination des cobayes contre les globules rouges de lapin ;

2<sup>o</sup> La sensibilisatrice augmente considérablement chez les cobayes auxquels on injecte des globules rouges de lapin. La dose que l'on trouve dans le sérum de ces animaux, après 3 injections, est toujours beaucoup plus faible que celle qui existe après 6 et 12 injections. Elle est habituellement au maximum après la 6<sup>e</sup> injection ;

3<sup>o</sup> Le sérum alexique de cobaye neuf convient bien pour doser la sensibilisatrice que le cobaye prépare contre les globules rouges de lapin ;

4<sup>o</sup> La sensibilisatrice que le cobaye produit contre les globules rouges de lapin constitue un excellent réactif pour doser de faibles doses d'alexine de cobaye neuf. Pour ce dosage, il faut recourir à la sensibilisatrice la plus active, c'est-à-dire à celle que l'on obtient après 6 injections de sang défibriné de lapin au cobaye ;

5<sup>o</sup> La sensibilisatrice augmente plus rapidement, chez le cobaye dont le sérum hémolyse déjà normalement les hématies de lapin, que chez le cobaye dont le sérum conserve bien celles-ci.

## II

### LE SÉRUM NORMAL DE L'ANIMAL INJECTÉ DISSOLVAIT DÉJÀ, AVANT LA VACCINATION, LES GLOBULES INJECTÉS

Le cas le plus simple de cette catégorie nous est fourni par le sérum de cobaye vacciné contre le sang de poule. On sait en effet que le sérum normal de cobaye est légèrement hémolytique pour les globules non sensibilisés de poule.

Comment se comportent les substances actives du sérum des cobayes auxquels on pratique 3-6-12 injections de sang de poule ?

A). Dosage de l'alexine dans le sérum de cobaye ayant reçu 3-6-12 injections de sang de poule.

Trois cobayes A B C, ayant respectivement reçu, à 8 jours d'intervalle, dans la cavité péritonéale, 3-6-12 injections de sang de poule, sont saignés le 10<sup>e</sup> jour après la dernière injection. On recherche alors la quantité d'alexine que contient leur sérum, comparativement à celle que possède le sérum alexique d'un cobaye neuf.

Deux tubes AI<sup>1</sup>, AI<sup>2</sup> reçoivent respectivement : AI<sup>1</sup>, 0,2 c. c. de sérum alexique cobaye poule 3 injections et 5,6 c. c. de sang désébriné, lavé et dilué (15 c. c. de sang + 85 eau physiologique).

AI<sup>2</sup>, 0,2 c. c. de sérum alexique cobaye neuf, 0,2 c. c. de sérum chauffé (sensibilisatrice) cobaye poule 3 injections et 5,4 c. c. de sang désébriné, lavé et dilué comme AI<sup>1</sup>.

Quatre autres tubes BI<sup>1</sup> et BI<sup>2</sup>, CI<sup>1</sup> et CI<sup>2</sup> sont préparés comme AI<sup>1</sup> et AI<sup>2</sup>, en substituant le sérum des cobayes B ou C au sérum du cobaye A.

L'intensité du phénomène d'hémolyse pour le sérum de chacun des cobayes A B C, comparée respectivement au sérum de cobaye alexique neuf, ne peut être attribuée qu'à l'alexine. En effet, la quantité de sensibilisatrice est la même pour les deux tubes AI<sup>1</sup> et AI<sup>2</sup>, BI<sup>1</sup> et BI<sup>2</sup>, CI<sup>1</sup> et CI<sup>2</sup>. Elle est contenue dans 0,2 c. c. de sérum alexique cobaye-poule 3-6-12 injections, seulement pour AI<sup>1</sup>, BI<sup>1</sup>, CI<sup>1</sup> le sérum cobaye-poule n'a pas été chauffé tandis que pour AI<sup>2</sup>, BI<sup>2</sup>, CI<sup>2</sup>, il a été chauffé à 56-57°.

L'alexine est fournie par 0,2 de sérum alexique de cobaye poule 3-6-12 injections, pour AI<sup>1</sup>, BI<sup>1</sup> et CI<sup>1</sup> et par 0,2 de sérum alexique cobaye neuf pour AI<sup>2</sup>, BI<sup>2</sup> et CI<sup>2</sup>. Si donc il existe une différence dans l'intensité du phénomène d'hémolyse, celle-ci sera due au fait que les 0,2 c. c. de sérum alexique de cobaye neuf et vacciné ne contiennent pas la même dose d'alexine.

Les résultats obtenus dans cette expérience sont consignés dans le tableau suivant :

| NUMÉROS<br>des tubes | Doses et origine du sérum<br>alexique. |  | Doses et origine de la<br>sensibilisatrice. |  | QUANTITÉ DE SANG POULE<br>dilué 15/0/0. | QUANTITÉ totale<br>liquide hémolyt. | HAUTEUR<br>des colonnes quand<br>les épreuves<br>présentent des teneurs<br>identiques. |
|----------------------|--|--|---|--|---|-------------------------------------|--|
|                      |  |  |   |  |   |                                     |  |
| AI <sup>1</sup>      | 0,2 sér. al. cob.-poule 3 inj.         |  | Contenue dans 0,2 de sér. al.               |  | 5,6                                     | 5,8                                 | 40   |
| AI <sup>2</sup>      | 0,2 sér. al. cob. neuf.                |  | 0,2 sér. chauffé cob.-p. 3 inj.             |  | 5,4                                     | 5,8                                 | 40   |
| BI <sup>1</sup>      | 0,2 sér. al. cob -poule 6 inj.         |  | Contenue dans 0,2 de sér. al.               |  | 5,6                                     | 5,8                                 | 69   |
| BI <sup>2</sup>      | 0,2 sér. al. cob. neuf.                |  | 0,2 sér. chauffé cob.-p. 6 inj.             |  | 5,4                                     | 5,8                                 | 70   |
| CI <sup>1</sup>      | 0,2 cob. al. cob.-poule 12 inj.        |  | Contenue dans 0,2 de sér. al.               |  | 5,6                                     | 5,8                                 | 67   |
| CI <sup>2</sup>      | 0,2 sér. al. cob. neuf.                |  | 0,2 sér. chauffé cob.-p. 12 inj.            |  | 5,4                                     | 5,8                                 | 65   |

Les chiffres de la 6<sup>e</sup>-colonne du tableau ci-dessus nous permettent d'établir, pour chacun des trois cobayes vaccinés, AI<sup>1</sup>, BI<sup>1</sup>, CI<sup>1</sup>, la dose d'alexine que contiennent 0,2 c. c. de leur sérum, comparativement à celle que possède 0,2 c. c. de sérum alexique neuf pris comme unité. Nous aurons :

Cobaye neuf = 1; cobaye poule 3 injections = 40/40 = 1; cobaye poule 6 injections = 70/69 = 1,01; cobaye poule 12 injections = 65/67 = 0,97.

Une seconde expérience a donné les chiffres suivants :

Cobaye neuf = 1; cobaye poule 3 injections = 1,04; cobaye poule 6 injections = 1,06; cobaye poule 12 injections = 1,04.

On voit par la comparaison de ces résultats :

1<sup>o</sup> Que la dose d'alexine n'est guère différente chez les cobayes vaccinés et chez les cobayes neufs. Toutefois, la légère augmentation que l'on constate dans la teneur en alexine du sérum des cobayes vaccinés nous paraît devoir être mise sur le compte des injections: elle ne semble pas attribuable aux variations individuelles. Il est d'ailleurs aisé de montrer que les doses d'alexine ne sont guère différentes dans le sérum des cobayes neufs.

Deux cobayes neufs, A et B, sont saignés à la carotide; avec leur sérum on prépare les deux tubes suivants :

A, 0,2 c. c. de sérum alexique cobaye neuf A, 0,3 c. c. de sérum chauffé, cobaye poule 3 injections, 5,3 c. c. de sang de poule désébriné lavé et dilué (12 sang + 88 eau phy.).

B, 0,2 c. c. de sérum alexique cobaye neuf B et les mêmes quantités des autres réactifs que A. Après 2 heures à 37° le colorimètre donne, quand les teintes sont identiques, 34 millim. de hauteur pour A et 34 millim. de hauteur pour B. Ceci signifie que 0,2 c. c. sérum alexique des cobayes neufs A et B contiennent exactement la même dose d'alexine, puisque tous les facteurs qui interviennent dans les tubes A et B sont les mêmes, sauf la provenance de l'alexine. Dans ces conditions, la légère augmentation de la teneur en alexine, que l'on rencontre habituellement dans le sérum des animaux vaccinés, ne doit pas être imputée à des différences individuelles, puisque celles-ci sont excessivement faibles ou nulles. Seule la vaccination peut être mise en cause; il est d'ailleurs facile de le démontrer expérimentalement. Pour cela, on fait à 8 jours d'intervalles, dans la cavité péritonéale du cobaye A, 3 injections de sang de poule, tandis que B sert de témoin. On dose alors à nouveau la quantité d'alexine contenue dans le sérum A, comparativement à celle qui se trouve dans le sérum B. On constate au colorimètre que des colonnes de 78 millim. de B et de 74 millim. de A donnent des teintes identiques. Il en résulte que lorsque B contient 1 d'alexine, A contient  $78 - 74 = 1,04$ . Ce résultat prouve que la vaccination a légèrement augmenté la quantité d'alexine du sérum de cobaye vacciné A.

B). Dosage de la sensibilisatrice dans le sérum de cobaye ayant reçu 3-6-12 injections de sang de poule.

Le sérum de cobaye étant normalement hémolytique pour les globules rouges de poule, nous ne pouvons pas, pour doser la sensibilisatrice des cobayes injectés, faire réagir des doses variables mais faibles, de sensibilisatrice cobaye poule vis-à-vis d'un excès de sérum alexique cobaye neuf pris comme témoin.

La dissolution des globules, normalement obtenue avec une forte dose de sérum alexique, masquerait la réaction faible attribuable aux petites doses de sensibilisatrice cobaye vacciné. En d'autres termes, la quantité de sensibilisatrice existant normalement dans l'excès de sérum alexique, serait plus élevée que la quantité de sensibilisatrice que l'on voudrait doser dans le sérum chauffé de cobaye vacciné contre le sang de poule 3-6-12 injections. Il est en effet aisé de démontrer que l'hémolyse que produit nor-

malement le sérum de cobaye neuf vis-à-vis des globules rouges de poule est due à la présence de sensibilisatrice.

Deux cobayes, A et B, sont saignés à la carotide et leur sérum sert aux réactions suivantes : dans un premier tube AI on introduit 0,2 c. c. de sérum alexique cobaye A et 5,6 c. c. de sang de poule désfibriné, lavé et dilué (10 c. c. sang + 90 eau physiologique). Un second tube B reçoit 0,2 c. c. de sérum alexique de cobaye B, et 5,6 c. c. sang de poule comme AI.

Dans un troisième tube AII on fait intervenir 0,2 c. c. sérum alexique cobaye A, 0,3 c. c. de sérum chauffé cobaye poule 3 injections et 5,4 c. c. de sang de poule désfibriné, lavé et dilué (12 c. c. sang + 88 eau physiologique). Enfin on dépose dans le 4<sup>e</sup> tube BII 0,2 c. c. de sérum alexique cobaye B, 0,3 c. c. de sérum chauffé cobaye poule ayant servi en AII et 5,4 c. c. du sang désfibriné de poule employé en AII.

On dose au colorimètre l'intensité du phénomène d'hémolyse et on obtient les résultats suivants :

AI (0,2 sérum alexique cobaye A + 5,6 sang poule) = 80 millim. ; BI (0,2 sérum alexique cobaye B + 5,6 sang poule) = 50 millim. ; AII (0,2 sérum alexique cobaye A + 0,3 sérum chauffé cobaye-poule + 5,4 sang de poule) = 40 millim. ; BII (0,2 sérum alexique cobaye B + 0,3 sérum chauffé cobaye-poule + 5,4 sang de poule) = 40 millim.

Si on compare les séruma normaux AI et BI, on voit que l'intensité du phénomène d'hémolyse est représentée par 1 pour AI et par 1,6 pour BI (80/50). Cette différence d'intensité peut être due à l'un des deux facteurs, alexine ou sensibilisatrice. Or si nous dosons l'alexine dans ces séruma, en ajoutant un léger excès de sérum chauffé cobaye-poule très riche en sensibilisatrice, on constate (tubes AII, BII) que l'intensité du phénomène d'hémolyse est représentée par le même nombre (40) pour chacun des deux cobayes.

Il en résulte évidemment que le sérum des deux cobayes A et B contenait la même dose d'alexine, et qu'en conséquence la différence dans l'intensité de l'hémolyse en AI et BI était due au fait que le sérum du cobaye B contenait plus de sensibilisatrice normale que le sérum du cobaye A.

On voit, par ce qui précède, qu'il est impossible de doser la quantité de sensibilisatrice du sérum des cobayes vaccinés

contre le sang de poule, en employant un excès de sérum alexique de cobaye neuf. Quelle quantité faut-il prendre de celui-ci? Les sérums normaux renferment toujours beaucoup plus d'alexine que de sensibilisatrice, puisque la vaccination augmente seulement la quantité de cette dernière substance; il faut arriver, par l'addition d'eau physiologique, à un état de dilution tel que la quantité constante de sérum dilué employée ne contienne plus de sensibilisatrice normale, alors qu'elle renferme encore assez d'alexine pour provoquer l'hémolyse en présence de faibles doses de sensibilisatrice cobaye-poule. D'après ce que nous avons dit jusqu'ici des différences individuelles que l'on peut constater chez les cobayes, on conçoit que la dilution doit être éminemment variable; tantôt c'est 1 de sérum pour 3 d'eau physiologique, tantôt c'est 1 de sérum pour 7 ou 9 d'eau physiologique. A moins que l'on ne rencontre un cobaye dont le sérum normal conserve bien les globules de poule, ce qui est exceptionnel, il faut opérer par tâtonnement. Au cours de ce travail, nous ne mentionnerons pas les essais entrepris pour déterminer les doses d'alexine qu'il convenait d'employer, nous ne rapporterons que les expériences où les dilutions se trouvaient dans les conditions voulues pour fournir des résultats comparables.

Trois cobayes, A B et C, ayant respectivement reçu, à 8 jours d'intervalle, dans la cavité péritonéale, 3-6-12 injections de 5 c. c. sang de poule, sont saignés 10 jours après la dernière injection. Le sérum de ces cobayes est chauffé à 56-57° pendant 40 minutes, afin d'éliminer l'alexine qui pourrait troubler les réactions. Il est ensuite dilué dans la proportion de 1 de sérum pour 3 d'eau physiologique. On emploie des doses croissantes 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, etc., que l'on ajoute à une dose constante de sérum alexique de cobaye neuf. Le sérum alexique de ce cobaye neuf nous a fourni des réactions proportionnelles aux doses de sensibilisatrice employées, lorsque nous l'avons dilué dans la proportion de 1 de sérum pour 3 d'eau physiologique, et que nous avons employé la dose constante de 0,2 de cette dilution. Les résultats de cette expérience sont consignés dans le tableau suivant:

| NUMÉROS<br>de tubes  | DOSES<br>de sérum<br>alexique<br>cob. neuf<br>dilué 1 + 3 | DOSES<br>de sérum chauffé<br>des cobayes<br>injectés<br>de sang de poule<br>dilué 1 + 3 | QUANTITÉ<br>de<br>sang<br>de poule<br>ajouté | QUANTITÉ<br>totale<br>de<br>liquide<br>hémolytique | HAUTEUR<br>des colonnes<br>quand les éprou-<br>vettes donnent<br>des<br>teintes identiques |
|--|---|---|--|--|--|
| <b>A. COBAYE AYANT REÇU 3 INJECTIONS DE SANG DE POULE</b>  |   |   |  |  |  |
| AI <sup>1</sup>  | 0,2   | 0   | 5,6 dilué 10 %                               | 5,8  | pas d'hémolyse   |
| AI <sup>2</sup>  | 0,2   | 0,1 sér. chauf.<br>cob.-p., 3 inj.  | 5,5 — —                                      | 5,8  | 0  |
| AI <sup>3</sup>  | 0,2   | 0,2 sér. chauf.<br>cob.-p., 3 inj.  | 5,4 — —                                      | 5,8  | 0  |
| AI <sup>4</sup>  | 0,2   | 0,3 sér. chauf.<br>cob.-p., 3 inj.  | 5,3 — —                                      | 5,8  | 50   |
| AI <sup>5</sup>  | 0,2   | 0,4 sér. chauf.<br>cob.-p., 3 inj.  | 5,2 — —                                      | 5,8  | 37   |
| AI <sup>6</sup>  | 0,2   | 0,5 sér. chauf.<br>cob.-p., 3 inj.  | 5,1 — —                                      | 5,8  | 30   |
| AI <sup>7</sup>  | 0,2   | 0,6 sér. chauf.<br>cob.-p., 3 inj.  | 5, dilué 12 %                                | 5,8  | 24   |
| AI <sup>8</sup>  | 0,2   | 0,7 sér. chauf.<br>cob.-p., 3 inj.  | 4,9 — —                                      | 5,8  | 21   |
| AI <sup>9</sup>  | 0,2   | 0,8 sér. chauf.<br>cob.-p., 3 inj.  | 4,8 — —                                      | 5,8  | 18   |
| <b>B. COBAYE AYANT REÇU 6 INJECTIONS DE SANG DE POULE</b>  |   |   |  |  |  |
| BI <sup>1</sup>  | 0,2   | 0,1 sér. chauf.<br>cob.-p., 3 inj.  | 5,5 dilué 10 %                               | 5,8  | 0  |
| BI <sup>2</sup>  | 0,2   | 0,2 sér. chauf.<br>cob.-p., 3 inj.  | 5,4 — —                                      | 5,8  | 0  |
| BI <sup>3</sup>  | 0,2   | 0,3 sér. chauf.<br>cob.-p., 3 inj.  | 5,3 — —                                      | 5,8  | 0  |
| BI <sup>4</sup>  | 0,2   | 0,4 sér. chauf.<br>cob.-p., 3 inj.  | 5,2 — —                                      | 5,8  | 0  |
| BI <sup>5</sup>  | 0,2   | 0,5 sér. chauf.<br>cob.-p., 3 inj.  | 5,1 — —                                      | 5,8  | 0  |
| BI <sup>6</sup>  | 0,2   | 0,6 sér. chauf.<br>cob.-p., 3 inj.  | 5, dilué 12 %                                | 5,8  | légère   |
| BI <sup>7</sup>  | 0,2   | 0,7 sér. chauf.<br>cob.-p., 3 inj.  | 4,9 — —                                      | 5,8  | 80   |
| BI <sup>8</sup>  | 0,2   | 0,8 sér. chauf.<br>cob.-p., 3 inj.  | 4,8 — —                                      | 5,8  | 69   |
| <b>C. COBAYE AYANT REÇU 12 INJECTIONS DE SANG DE POULE</b> |   |   |  |  |  |
| CI <sup>1</sup>  | 0,2   | 0,1 sér. chauf.<br>cob.-p., 12 inj.   | 5,5 dilué 10 %                               | 5,8  | 0  |
| CI <sup>2</sup>  | 0,2   | 0,2 sér. chauf.<br>cob.-p., 12 inj.   | 5,4 — —                                      | 5,8  | 0  |
| CI <sup>3</sup>  | 0,2   | 0,3 sér. chauf.<br>cob.-p., 12 inj.   | 5,3 — —                                      | 5,8  | 0  |
| CI <sup>4</sup>  | 0,2   | 0,4 sér. chauf.<br>cob.-p., 12 inj.   | 5,2 — —                                      | 5,8  | 0  |
| CI <sup>5</sup>  | 0,2   | 0,5 sér. chauf.<br>cob.-p., 12 inj.   | 5,1 — —                                      | 5,8  | 0  |
| CI <sup>6</sup>  | 0,2   | 0,6 sér. chauf.<br>cob.-p., 12 inj.   | 5, dilué 12 %                                | 5,8  | 0  |
| CI <sup>7</sup>  | 0,2   | 0,7 sér. chauf.<br>cob.-p., 12 inj.   | 4,9 — —                                      | 5,8  | 0  |
| CI <sup>8</sup>  | 0,2   | 0,8 sér. chauf.<br>cob.-p., 12 inj.   | 4,8 — —                                      | 5,8  | 0  |

Si nous comparons entre eux les résultats fournis par le sérum des cobayes ayant reçu 3-6-12 injections, nous constaterons que, chez le premier, l'intensité du phénomène d'hémolyse est proportionnelle aux doses de sensibilisatrice dès qu'on emploie 0,3 c. c. de sérum chauffé dilué (1 + 3) du cobaye A (3 injections de sang poule).

Chez le second cobaye (B), l'hémolyse est proportionnelle avec une dose de 0,7 de sérum chauffé, dilué (1 + 3) de cobaye-poule (6 injections).

Chez le troisième (cobaye C), l'hémolyse n'apparaît même pas avec une dose de 0,8 de sérum chauffé et dilué (1 + 3) de cobaye poule (12 injections). Nous pouvons déterminer la quantité de sensibilisatrice qui existe chez chacun des cobayes B et C, comparativement à celle qui se retrouve dans le sérum de cobaye A pris comme unité. Nous aurons les rapports suivants :

Cobaye 3 injections = 21 = 1; cobaye 6 injections = 80 = 21/80 = 0,26; cobaye 12 injections, plus petit que 0,26.

Une seconde expérience a donné les résultats suivants :

Cobaye-poule 3 injections = 1, cobaye-poule 6 injections = 0,7, cobaye-poule 12 injections = 0,6.

Enfin dans une troisième expérience, nous avons obtenu :

Cobaye-poule 3 injections = 1, cobaye-poule 6 injections = 1,2, cobaye-poule 12 injections = 0,8.

Ces trois expériences nous permettent d'admettre que les cobayes que l'on injecte contre le sang de poule ont généralement atteint le maximum de sensibilisatrice qu'ils peuvent produire après 3 injections. Les injections que l'on pratique ultérieurement ont pour effet d'affaiblir la teneur en sensibilisatrice du sérum des cobayes.

Les expériences que nous avons entreprises, dans le but de rechercher si les substances actives augmentaient progressivement avec le nombre d'injections dans le sérum des cobayes vaccinés contre le sang de poule, nous permettent d'établir les conclusions suivantes :

1<sup>o</sup> L'alexine hémolytique varie peu au cours de l'immunisation des cobayes contre le sang de poule;

2<sup>o</sup> La sensibilisatrice augmente jusqu'à la troisième injection, pour diminuer après 6 et 12 injections.

Toutefois, dans ces expériences, il faut tenir compte des différences individuelles;

3<sup>e</sup> La sensibilisatrice de cobaye-poule se prête moins bien que celle de cobaye-lapin au dosage de faibles quantités d'alexine de cobaye neuf.

### III

#### DOSAGE DES SUBSTANCES ACTIVES DANS LE SÉRUM DE LAPIN AYANT REÇU 3-6-12 INJECTIONS DE SANG DE POULE

L'étude des variations que subit le sérum des lapins vaccinés contre le sang de poule nous met en présence du maximum des difficultés que l'on peut rencontrer dans le dosage des substances actives des sérum hémolytiques. On sait en effet que le sérum normal de lapin est notablement hémolytique pour les hématies de poule et qu'il est absolument exceptionnel de rencontrer un lapin dont le sérum conserve bien celles-ci.

A. Dosage de l'alexine dans le sérum de lapin ayant reçu 3-6-12 injections de sang de poule.

Trois lapins A B C, ayant respectivement reçu, à 8 jours d'intervalle, dans la cavité péritoneale, 3-6-12 injections de sang désébriné de poule, sont saignés 10 jours après la dernière injection. On recherche alors la quantité d'alexine que contient leur sérum, comparativement à celle que renferme le sérum alexique de lapin neuf.

Six tubes AI et AII, BI et BII, CI et CII reçoivent respectivement : AI, BI et CI, 0,2 c. c. de sérum alexique lapin neuf, 0,2 c. c. de sérum chauffé de lapin-poule, 3 injections pour AI, 6 injections pour BI, et 12 injections pour CI. Les tubes AII, BII et CII reçoivent respectivement 0,2 c. c. de sérum alexique lapin-poule, 3 injections pour AII, 6 injections pour BII et 12 injections pour CII. On ajoute ensuite à AI, BI et CI, 5,4 c. c. de sang désébriné, lavé et dilué de poule (12 c. c. sang + 88 eau physiologique). A AII, BII et CII, on ajoute 5,6 c. c. du même sang de poule. Les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

| NUMÉROS<br>des tubes | DOSES ET ORIGINE<br>du<br>SÉRUM ALEXIQUE | DOSES ET ORIGINE<br>de<br>L'HÉMOSENSIBILISATRICE            | QUANTITÉ<br>de sang<br>POULE AJOUTÉ | Quantité de liquide<br>hémolytique | HAUTEUR<br>des colonnes quand<br>les éprouvettes<br>donnent des teintes<br>identiques. |
|----------------------|--|---|-------------------------------------|------------------------------------|--|
| AI                   | 0,2 sér. alex. lapin<br>neuf.            | 0,2 sér. chauf. lapin-<br>poule 3 injections.               | 5,4 dilué 12+88                     | 5,8                                | 54   |
| AII                  | 0,2 sér. alex. lapin-<br>poule 3 inj.    | Contenue dans les 0,2<br>de sér. alex. lap-<br>poule 3 inj. | 5,6 — —                             | —                                  | 78   |
| BI                   | 0,2 sér. alex. lap-<br>neuf.             | 0,2 sér. chauf. lapin-<br>poule 6 injections.               | 5,4 — —                             | —                                  | 42   |
| BII                  | 0,2 sér. alex. lap-<br>poule 6 inj.      | Contenue d. les 0,2 de<br>sér. al. lap.-p. 6 inj.           | 5,6 — —                             | —                                  | 40   |
| CI                   | 0,2 sér. alex. lap-<br>neuf.             | 0,2 sér. chauf. lapin-<br>p. 12 injections.                 | 5,4 — —                             | —                                  | 39   |
| CII                  | 0,2 sér. alex. lap-<br>p. 12 inj.        | Contenue d. les 0,2 de<br>sér. alex. lap.-p.12i.            | 5,6 — —                             | —                                  | 35   |

L'intensité du phénomène d'hémolyse pour chacun des lapins vaccinés A, B, C, comparée respectivement au sérum alexique de lapin neuf, ne peut être attribuée qu'à la différence qui existe entre les doses d'alexine contenue dans 0,2 de sérum alexique du lapin neuf, comparées à celles qui se trouvent dans 0,2 de sérum alexique de chacun des lapins vaccinés 3-6-12 injections, puisque pour chacune des trois séries AI et AII, BI et BII, CI et CII, tous les facteurs qui interviennent dans les réactions sont les mêmes, sauf l'alexine qui provient tantôt du lapin neuf, tantôt d'un lapin vacciné 3-6-12 injections. Dans ces conditions, l'intensité du phénomène d'hémolyse est proportionnelle à la quantité d'alexine contenue dans les 0,2 c. c. des différents sérum alexiques employés. Comme l'intensité du phénomène d'hémolyse est inversement proportionnelle à la hauteur des colonnes de liquide quand les éprouvettes présentent une teinte identique, 0,2 c. c. des différents sérum alexiques contiennent des doses d'alexine inversement proportionnelles aux nombres représentés dans la dernière colonne. Si l'on prend pour unité, dans chacune des trois séries, le sérum de lapin neuf et qu'on y rapporte le sérum de lapin vacciné, on aura :

Lapin neuf = 1, lapin 3 injections = 54/78 = 0,69, lapin 6 injections = 42/40 = 1,05, lapin 12 injections = 30/35 = 1,11.

Donc, quand le sérum de lapin neuf contient 1 d'alexine, le sérum de lapin-poule 3 injections, 6 injections, 12 injections, renferme respectivement 0,69, 1,05, 1,44.

Une seconde expérience a donné :

Sérum lapin neuf = 1, sérum lapin 3 injections = 0,65, sérum lapin 6 injections = 1, sérum lapin 12 injections = 1,05.

Une troisième expérience fournit les chiffres suivants :

Sérum lapin neuf = 1, sérum lapin 3 injections = 0,55, sérum lapin 6 injections = 0,58, sérum lapin 12 injections = 1,00, sérum lapin 30 injections = 1,28.

Ces 3 expériences nous apprennent que le sérum ayant reçu 3 injections de sang de poule renferme une dose d'alexine inférieure à celle que possèdent le lapin neuf témoin et les lapins vaccinés auxquels on a fait 6-12-30 injections de sang de poule. À partir de la 6<sup>e</sup> injection, la quantité d'alexine du sérum des lapins vaccinés se rapproche de la teneur en alexine du sérum neuf; si l'on continue alors les injections, cette dernière est légèrement dépassée, comme le montre le sérum d'un lapin qui avait reçu 30 injections de sang de poule (expérience III).

Cette diminution de l'alexine, chez les lapins qui ont reçu 3 injections de sang de poule, méritant d'attirer l'attention, nous nous sommes efforcé de la confirmer par des dosages d'alexine effectués avant et après l'injection de sang défibriné de poule.

On prélève à la carotide de 3 lapins A, B, C, quelques c. c. de sang avec le sérum duquel on prépare les tubes suivants :

A. Sérum alexique lapin A dilué (1 + 7) 0,4 c. c. 0,4 de sérum chauffé lapin-poule 4 injections.

B. Sérum alexique lapin B dilué (1 + 7) 0,4 c. c., 0,4 du même sérum chauffé lapin-poule que A.

C. Sérum alexique lapin C dilué (1 + 7) 0,4 c. c., 0,4 de sérum chauffé du même lapin-poule 4 injections.

A chacun de ces tubes on ajoute 5 c. c. de sang de poule défibriné lavé et dilué (12 sang + 88 eau phys.): après 2 heures à 36-37° on centrifuge et on procède au dosage colorimétrique qui fournit les résultats suivants :

A = 60 millimètres, B = 76 millimètres, C = 48 millimètres.

Si la dose d'alexine contenue en B est prise comme unité, on aura :

$$B = 78 = 1, A = 50 = 78/50 = 1,56, C = 48 = 78/48 = 1,62.$$

Les deux lapins A et C reçoivent, à 8 jours d'intervalle, dans la cavité péritonéale, 3 injections de 5 c. c. de sang de poule. 10 jours après la 3<sup>e</sup> injection nous saignons ces deux lapins et le lapin témoin B qui n'a pas été injecté. Le sérum sert à préparer les tubes suivants :

AI sérum alexique lapin vacciné A, C, 0,2 + 5,6 c. c. sang poule, 12 p. 0/0. BI sérum alexique lapin témoin B C, 0,2 + 0,2 c. c. sérum chauffé lapin A + 5,4 sang poule 12 p. 0/0. CI sérum alexique lapin C 0,2 + 5,6 sang poule 12 p. 0/0. BII sérum alexique lapin témoin B 0,2 0,2 + sérum chauffé lapin C + 5,4 sang poule défibriné, lavé, dilué (12 + 88).

Après 2 heures de séjour à 36-37° on centrifuge et on porte sous le colorimètre qui fournit les chiffres suivants :

$$AI = 78, BI = 39, CI = 78, BII = 39.$$

Or AI et BI contiennent la même quantité de sensibilisatrice 0,2, fournie par le même lapin vacciné A et une dose égale 0,2 de sérum alexique donnée en AI par le lapin vacciné A, et en BI par le lapin témoin non injecté B. La différence entre 78 et 39 ne peut donc provenir que du fait que les quantités égales de sérum alexique 0,2, qui étaient prises à 2 lapins différents, contenaient des doses inégales d'alexine hémolytique. Le même raisonnement est applicable à CI et à BII.

Le sérum de lapin B qui avait servi comme témoin, pour le dosage de l'alexine du sérum des lapins A et C, avant la vaccination, étant conservé comme tel après l'immunisation, nous aurons :

$$B = 39 = 1, AI = 78 = 39/78 = 0,5, CI = 78 = 39/78 = 0,5.$$

Avant l'injection de sang de poule, quand B renfermait 1 d'alexine, A contenait 1,56 et C 1,62. Après l'injection, alors que B renferme toujours 1 d'alexine, on trouve 0,5 pour A et 0,5 pour C. La quantité d'alexine est donc tombée, à la suite de la vaccination, de 1,56 à 0,5 pour A et de 1,6 à 0,5 pour C.

Nous avons donc 5 expériences qui nous montrent que l'alexine hémolytique diminue, chez le lapin, au cours des

3 premières injections de globules rouges de poule. A partir de la 3<sup>e</sup> injection, l'alexine augmente alors et peut arriver à dépasser légèrement la quantité que l'on trouve normalement chez le lapin neuf. Nous verrons tantôt que la sensibilisatrice se comporte de façon inverse. Elle est habituellement au maximum après 3 injections et diminue quand on augmente le nombre de celles-ci. Il semble donc que lorsque le lapin vacciné élabore la sensibilisatrice, il suspend ou ralentit la production d'alexine et réciproquement. C'est là un argument en faveur de la conception de Metchnikoff qui attribue, croyons-nous aux mêmes éléments cellulaires, la production des deux substances actives du sérum hémolytique.

*B. Dosage de la sensibilisatrice dans le sérum de lapin ayant reçu 3-6-12 injections de sang de poule.*

On sait que le sérum normal de lapin est généralement hémolytique pour les globules normaux de poule. Il est aisé de démontrer que cette hémolyse normale est due à la présence de sensibilisatrice naturelle, et que celle-ci varie dans de grandes proportions, suivant les individus étudiés. Trois lapins neufs adultes, A, B, C, sont saignés à la carotide et on dose l'alexine et la sensibilisatrice dans le sérum, comme suit :

Trois tubes AI<sup>1</sup>, BI<sup>1</sup>, CI<sup>1</sup>, reçoivent respectivement 0,2 c. c. de sérum alexique des lapins A, B, C, et 5,6 c. c. de sang de poule défibriné, lavé et dilué (12 + 88). Trois autres tubes AI<sup>2</sup>, BI<sup>2</sup>, CI<sup>2</sup>, reçoivent respectivement 0,2 de sérum alexique des lapins A, B, C, 0,2 c. c. de sérum chauffé d'un lapin ayant reçu 4 injections de sang de poule défibriné, lavé et dilué (15 + 85). Après 2 heures de séjour à l'étuve 36-37° on centrifuge et on procède à l'examen au colorimètre, qui fournit les résultats suivants :

AI<sup>1</sup> (0,2 sérum alexique lapin A) + 5,6 sang poule (12 + 88) = 78 millimètres. BI<sup>1</sup> (0,2 c. c. sérum alexique lapin B) + 5,6 sang poule (12 + 88) = 32 millimètres. CI<sup>1</sup> (0,2 c. c. sérum alexique lapin C) + 5,6 sang poule (12 + 88) = 22 millimètres,

AI<sup>2</sup> (0,2 c. c. sérum alexique lapin A) + 0,2 sérum chauffé lapin-poule 4 injections + 5,4 sang poule = 15 millimètres.

$BI^2$  (0,2 c. c. sérum alexique B) + 0,2 sérum chauffé lapin-poule 4 injections + 5,4 sang poule = 15 millimètres.  $CI^2$  (0,2 c. c. sérum alexique C) + 0,2 sérum chauffé lapin-poule 4 injections + 5,4 sang poule = 15 millimètres.

Les trois derniers tubes  $AI^2$ ,  $BI^2$ ,  $CI^2$ , qui ont reçu 0,2 c. c. de la même sensibilisatrice, doivent l'intensité de l'hémolyse qu'ils produisent à la dose d'alexine contenue dans les 0,2 de sérum alexique. Or ces 0,2 de sérum alexique proviennent de 3 lapins différents A, B, C. Quand les éprouvettes du colorimètre donnent des teintes identiques, la hauteur de la colonne de liquide (15 millimètres) est la même; il en résulte que 0,2 c. c. de sérum alexique de chacun des 3 lapins A, B, C contenaient la même dose d'alexine hémolytique. Si le sérum alexique de ces lapins contient la même dose d'alexine, la différence dans l'intensité du phénomène d'hémolyse obtenue par le sérum normal des lapins A, B, C, tubes  $AI^1$ ,  $BI^1$ ,  $CI^1$ , ne peut être attribué qu'au fait que les 0,2 c. c. de sérum alexique employé, qui possèdent la même dose d'alexine, contiennent des doses variables de sensibilisatrice normale. Or, en présence d'une quantité égale d'alexine, l'intensité du phénomène d'hémolyse est proportionnelle à la dose de sensibilisatrice. Les 0,2 de sérum alexique de lapin A, B, C contiennent donc des doses de sensibilisatrice inversement proportionnelles aux nombres 78, 32, 22. A étant pris comme unité, nous aurons :

Lapin A = 78 = 1. Lapin B = 32.  $78/32 = 2,43$ . Lapin C = 22 =  $78/22 = 3,54$ .

En présence de doses aussi élevées de sensibilisatrice normale dans les sérums de lapin neuf, on conçoit qu'il devient excessivement difficile de doser la sensibilisatrice apparue à la suite des injections chez les animaux vaccinés. Le sérum normal, pris comme terme de comparaison, devrait être porté, par l'addition d'eau physiologique, à une dilution telle qu'il ne contienne plus de sensibilisatrice normale, alors qu'il renfermerait encore assez d'alexine pour donner le phénomène d'hémolyse en présence de faibles quantités de sensibilisatrice de lapins vaccinés. Il faut donc déterminer cette dilution par des essais préliminaires. On obtient des chiffres proportionnels aux doses de sensibilisatrice lapin-poule employées, tantôt avec une dilution de 1 c. c. de sérum alexique lapin neuf pour

3, 7, 10, 14, 19 d'eau physiologique. Parmi les expériences que nous avons réalisées, trois nous ont donné des résultats comparables : nous les rapporterons en omettant toutefois les essais qui nous ont permis d'établir la dilution de sérum lapin neuf qu'il convenait d'employer.

Trois lapins A, B, C, ayant respectivement reçu, à 8 jours de distance dans la cavité péritonéale, 3, 6, 12 injections de sang de poule, sont saignés à la carotide le 10<sup>e</sup> jour après la dernière injection. Leur sérum est chauffé à 56-57° pendant 35-40 minutes, afin de détruire l'alexine, puis dilué dans la proportion de 1 de sérum pour 9 d'eau physiologique. Nous ajoutons ensuite des doses croissantes de cette dilution à 0.2 de sérum alexique dilué (1 + 14) de lapin neuf. Les résultats sont consignés dans le tableau suivant :

ÉTUDE DES SÉRUMS HÉMOLYTIQUES

4043

| Nos<br>d'ordre<br>des<br>tubes                            | QUANTITÉ<br>de sérum<br>alexique<br>lapin neuf<br>dilué 1+14 | ORIGINE<br>ET<br>DOSES<br>de sensibilisatrice<br>diluée 1+9 | QUANTITÉS<br>de<br>sang<br>poule | QUANTITÉ<br>totale<br>de liquide<br>hémolytique | HAUTEUR<br>des colonies<br>quand les éprou-<br>vettes donnent<br>des teintes identiques |
|---|--|---|----------------------------------|---|---|
| <b>A. LAPIN AYANT REÇU 3 INJECTIONS DE SANG DE POULE</b>  |  |   |                                  |   |   |
| AI <sup>1</sup>   | 0,2  | 0,1 sér. chauf. lap.-<br>p., 3 inj. 1+9.                    | 5,5 dilué 10 %                   | 5,8   | 0   |
| AI <sup>2</sup>   | 0,2  | 0,2 sér. chauf. lap.-<br>p., 3 inj. 1+9.                    | 5,4 — —                          | 5,8   | 45  |
| AI <sup>3</sup>   | 0,2  | 0,3 sér. chauf. lap.-<br>p., 3 inj. 1+9.                    | 5,3 — —                          | 5,8   | 30  |
| AI <sup>4</sup>   | 0,2  | 0,4 sér. chauf. lap.-<br>p., 3 inj. 1+9.                    | 5,2 — —                          | 5,8   | 49  |
| AI <sup>5</sup>   | 0,2  | 0,6 sér. chauf. lap.-<br>p., 3 inj. 1+9.                    | 5 dilué 12 %                     | 5,8   | 42  |
| AI <sup>6</sup>   | 0,2  | 0,8 sér. chauf. lap.-<br>p., 3 inj. 1+9.                    | 4,8 — —                          | 5,8   | 42  |
| <b>B. LAPIN AYANT REÇU 6 INJECTIONS DE SANG DE POULE</b>  |  |   |                                  |   |   |
| BI <sup>1</sup>   | 0,2  | 0,1 sér. chauf. lap.-<br>p., 6 inj. 1+9.                    | 5,5 dilué 10 %                   | 5,8   | 0   |
| BI <sup>2</sup>   | 0,2  | 0,2 sér. chauf. lap.-<br>p., 6 inj. 1+9.                    | 5,4 — —                          | 5,8   | 50  |
| BI <sup>3</sup>   | 0,2  | 0,3 sér. chauf. lap.-<br>p., 6 inj. 1+9.                    | 5,3 — —                          | 5,8   | 37  |
| BI <sup>4</sup>   | 0,2  | 0,4 sér. chauf. lap.-<br>p., 6 inj. 1+9.                    | 5,2 — —                          | 5,8   | 28  |
| BI <sup>5</sup>   | 0,2  | 0,6 sér. chauf. lap.-<br>p., 6 inj. 1+9.                    | 5 dilué 12 %                     | 5,8   | 24  |
| BI <sup>6</sup>   | 0,2  | 0,8 sér. chauf. lap.-<br>p., 6 inj. 1+9.                    | 4,8 — —                          | 5,8   | 22  |
| <b>C. LAPIN AYANT REÇU 12 INJECTIONS DE SANG DE POULE</b> |  |   |                                  |   |   |
| CI <sup>1</sup>   | 0,2  | 0,1 sér. chauf. lap.-<br>p., 12 inj. 1+9.                   | 5,5 dilué 10 %                   | 5,8   | 0   |
| CI <sup>2</sup>   | 0,2  | 0,2 sér. chauf. lap.-<br>p., 12 inj. 1+9.                   | 5,4 — —                          | 5,8   | 78  |
| CI <sup>3</sup>   | 0,2  | 0,3 sér. chauf. lap.-<br>p., 12 inj. 1+9.                   | 5,3 — —                          | 5,8   | 60  |
| CI <sup>4</sup>   | 0,2  | 0,4 sér. chauf. lap.-<br>p., 12 inj. 1+9.                   | 5,2 — —                          | 5,8   | 46  |
| CI <sup>5</sup>   | 0,2  | 0,6 sér. chauf. lap.-<br>p., 12 inj. 1+9.                   | 5 dilué 12 %                     | 5,8   | 30  |
| CI <sup>6</sup>   | 0,2  | 0,8 sér. chauf. lap.-<br>p., 12 inj. 1+9.                   | 4,8 — —                          | 5,8   | 24  |

Puisque 0,3 c. c. de sérum chauffé, dilué (1+9) de lapin 3, 6, 12 injections donnent, dans chacun des essais, des nombres proportionnels aux quantités de sensibilisatrice intervenues dans la réaction, la dose de sensibilisatrice contenue dans ces 0,3 de sérum chauffé est inversement proportionnelle aux nombres correspondants de la sixième colonne, car la quantité d'alexine employée dans chacune des réactions est constante (0,2 de la dilution 1+14). Nous aurons donc, en prenant pour unité le sérum de lapin vacciné 3 injections :

A, lapin vacciné 3 injections = 30 = 1; B, lapin vacciné 6 injections = 37 = 30/37 = 0,88; C, lapin vacciné 12 injections = 60 = 30/60 = 0,5.

Une seconde expérience, entreprise dans les mêmes conditions avec d'autres lapins vaccinés, a donné les résultats suivants :

A, lapin-poule 3 injections = 1; B, lapin-poule 6 injections = 1,25; C, lapin-poule 12 injections = 0,80.

Ces deux expériences nous avaient permis de constater que la quantité de sensibilisatrice contenue dans le sérum de lapin ayant reçu 12 injections, était toujours beaucoup inférieure à celles que nous retrouvons dans le sérum des lapins qui n'avaient reçu que 3 ou 6 injections; nous avons donc recherché si la vaccination contre les globules rouges, poussée jusqu'à la trentième injection, favoriserait cette diminution de la teneur en sensibilisatrice. Voici les résultats finals :

A, lapin vacciné 3 injections = 1; B, lapin vacciné 6 injections = 0,92; C, lapin vacciné 12 injections = 0,84; D, lapin vacciné 30 injections = 0,70.

#### CONCLUSIONS

Le sérum des lapins vaccinés contre le sang de poule augmente rapidement sa quantité de sensibilisatrice. Celle-ci atteint habituellement son maximum après la troisième injection, parfois seulement après la sixième injection. Généralement, au-delà de la troisième et toujours au-delà de la sixième injection, la quantité de sensibilisatrice suit une marche décroissante; toutefois, celle-ci se retrouve encore dans le sérum, même après la trentième injection.

Lorsque le sérum atteint sa teneur maximum en sensibilisatrice après la troisième injection, la diminution qui se produit de la troisième à la sixième injection est relativement faible ; d'un autre côté, il arrive que le sérum ne possède la dose maximum de sensibilisatrice qu'après la sixième injection. Il en résulte que lorsqu'on voudra obtenir, avec certitude, chez le lapin, un sérum bien actif contre le sang de poule, il conviendra de préparer celui-ci par 4 injections de sang désébriné de poule. La sensibilisatrice obtenue dans ces conditions constitue un excellent réactif pour doser l'alexine dans le sérum de lapin. Ce dosage présentant une grande importance au point de vue de nos recherches ultérieures, il était utile de déterminer exactement les quantités de réactif qu'il convenait d'employer. Nous savons que les deux lois suivantes règlent le mode d'union des substances actives avec les globules rouges, pour donner le phénomène d'hémolyse :

1<sup>o</sup> En présence de l'un des deux constituants du sérum, l'intensité du phénomène d'hémolyse est proportionnelle aux doses de l'autre constituant intervenant dans la réaction ;

2<sup>o</sup> En présence de la quantité minimum des deux constituants qui peuvent provoquer la globulolyse, l'intensité du phénomène d'hémolyse est, dans une certaine limite, proportionnelle aux doses croissantes que l'on fait intervenir de l'autre constituant.

La seconde loi est d'une application trop difficile et exige trop de tâtonnements pour qu'elle puisse servir dans les opérations courantes.

La première loi peut donner de bons résultats, mais il faut déterminer les conditions expérimentales dans lesquelles on doit se placer pour les obtenir.

Le sérum alexique de lapin produit normalement la dissolution des globules rouges de poule, et nous avons vu que l'intensité de ce phénomène d'hémolyse varie parfois dans de fortes limites. Il n'est donc pas pratique de doser l'alexine des lapins en opérant sur de fortes quantités de sérum alexique, car la sensibilisatrice normale, qui pourrait y être en grande quantité, interviendrait trop activement dans les réactions dont elle troublerait les résultats. En admettant que le sérum normal fût peu hémolytique, une forte dose de celui-ci exigerait des

doses de sensibilisatrice lapin-poule et surtout de sang défi-briné poule trop élevées pour que le dosage soit pratique. Nous avons donc recherché la dilution qu'il convenait de faire subir au sérum alexique de lapin dont on veut doser l'alexine d'une part, et la quantité de sensibilisatrice lapin-poule qu'il était nécessaire d'ajouter à ce sérum d'autre part, pour obtenir des réactions hémolytiques dont l'intensité fut proportionnelle aux doses d'alexine intervenant dans la réaction. Théoriquement, la dilution du sérum alexique devait être telle que l'action de la sensibilisatrice normale fût négligeable en présence de l'effet produit par l'excès de la sensibilisatrice lapin-poule 4 injections.

Après de nombreux essais, nous avons constaté que la dilution (1+7) de sérum alexique de lapin dont on veut doser l'alexine, donnait habituellement de bons résultats. On emploie des doses croissantes 0,1, 0,2, 0,4, etc., que l'on met en présence d'une quantité constante 0,4 de sérum chauffé lapin-poule 4 injections et d'un nombre suffisant de globules rouges de poule.

#### CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Pour dégager les conclusions qui ressortent de la deuxième partie de nos recherches, nous devons nous placer à trois points de vue différents :

A. — Nous devons d'abord examiner les modifications du pouvoir hémolytique du sérum des animaux vaccinés contre les globules rouges;

B. — Nous devons ensuite envisager le mécanisme que l'animal emploie pour augmenter son pouvoir hémolytique;

C. — Enfin au point de vue du dosage de l'alexine hémolytique des sérum, sur lequel nous reviendrons fréquemment dans nos recherches ultérieures.

A. — Au point de vue des modifications que subit le pouvoir hémolytique au cours de la vaccination contre les globules rouges, une seule conclusion d'une portée générale s'impose. Le sérum des animaux vaccinés contre les globules rouges d'espèces différentes atteint son pouvoir hémolytique maximum après un nombre déterminé d'injections, qu'il est prudent de ne pas dépasser sous peine de voir baisser l'action hémolytique. Ce

maximum d'injections varie non seulement suivant les espèces, mais encore, pour une même espèce, avec la nature des globules rouges injectés. En outre, il existe des variations individuelles dont il faut tenir compte, entre les différents animaux d'une même espèce que l'on veut vacciner.

B. — Au point de vue du mécanisme que l'animal emploie pour atteindre son pouvoir hémolytique maximum, nous avons constaté :

1<sup>o</sup> La quantité d'alexine ne subit que des fluctuations légères au cours de la vaccination;

2<sup>o</sup> La sensibilisatrice augmente considérablement au cours de l'immunisation contre les globules rouges;

3<sup>o</sup> La production de sensibilisatrice n'est pas illimitée, elle suit d'abord une marche ascendante parallèle au nombre d'injections; elle arrive ainsi à un maximum, puis elle suit une marche descendante, alors même que l'on continue les injections de globules rouges; toutefois, il ne nous a pas été donné de constater sa disparition, même dans le sérum de lapin qui avait reçu 30 injections de sang défibriné de poule.

C. — Au point de vue du dosage de l'alexine hémolytique dans les sérums :

1<sup>o</sup> Le nombre des injections que l'on pratique aux animaux chez lesquels on veut obtenir la production d'hémo-sensibilisatrice n'est pas indifférent. Celle-ci n'arrive en effet au maximum qu'après un nombre déterminé d'injections. En dessous ou au delà de celui-ci, la quantité d'hémo-sensibilisatrice est plus faible. A part les différences individuelles avec lesquelles il faut toujours compter, le nombre d'injections doit être porté à 4 chez les cobayes et les lapins que l'on veut vacciner contre le sang de poule, et à 6 chez les cobayes auxquels on injecte du sang de lapin;

2<sup>o</sup> Pour doser de faibles doses d'alexine hémolytique, il est nécessaire d'opérer avec des hémo-sensibilisatrices actives;

3<sup>o</sup> Le cas le plus simple pour doser l'alexine est fourni par le sérum qui, normalement, est dépourvu de propriétés hémolytiques vis-à-vis des globules rouges qui interviendront dans le dosage. On le rencontre dans le sérum de cobaye vacciné contre le sang de lapin. Pour effectuer ce dosage, il suffit de

mettre en présence de doses suffisantes de globules rouges et d'une quantité constante (0,5 c. c.) d'hémo-sensibilisatrice (sérum chauffé cobaye-lapin 6 injections), des quantités variables d'un même sérum ou une dose constante de sérums différents. L'intensité du phénomène d'hémolyse sera, dans ces conditions, proportionnelle aux doses d'alexine figurant dans les réactions ;

4<sup>o</sup> Pour doser l'alexine du sérum de lapin, il faut faire réagir, en présence de globules rouges de poule et d'une dose constante (0,4) d'hémo-sensibilisatrice lapin-poule (sérum chauffé de lapin ayant reçu 4 injections de sang de poule), soit des doses croissantes du même sérum alexique habituellement dilué dans la proportion de 1 de sérum pour 7 d'eau physiologique, soit une dose constante de sérums différents dilués ou non, suivant les circonstances. Dans ce cas, l'intensité du phénomène est proportionnel aux doses d'alexine employées ;

5<sup>o</sup> Les dosages s'effectuent mieux lorsque l'on met en présence de faibles doses de réactifs.

# Études sur la morve expérimentale du cobaye.

PAR MAURICE NICOLLE

---

## ERRATA

Page 627, ligne 11. Au lieu de : ils forment, lire : ils y forment.

Page 657, ligne 17. Au lieu de : bien peu nombreuses, lire : bien que peu nombreuses.

Page 703, ligne 19. Au lieu de : 10, lire :  $10^{-6}$ .

Page 711, ligne 8. Au lieu de : de vaginales, lire : des vaginales.

Page 713, ligne 34. Au lieu de : 10 centigrammes, lire : 10 grammes.

Page 717, ligne 33. Au lieu de : terme limité, lire : terme limite.

Page 725, ligne 9. Au lieu de : 10, lire :  $10^{-2}$ .

Page 726, ligne 2. Au lieu de : 5 grammes, lire 5 centigrammes.

Page 806, ligne 17. Au lieu de : jaune, grisâtre, lire : jaune grisâtre.

Page 806, ligne 19. Au lieu de : très fertiles, lire : fertiles.

Page 806, ligne 30. Au lieu de : accompagnés, lire : accompagné.

Page 811, ligne 20. Au lieu de : auxquels cas, lire : auquel cas.

Page 813, ligne 31. Au lieu de : éphémères, lire : éphémère.

Page 813, ligne 34. Au lieu de :  $10^8$ , lire :  $10^{-8}$ .

Page 814, lignes 37, 38 et 39. Au lieu de : pouvoir antimicrobien très marqué ; lire : pouvoir antimicrobien très marqué,

Page 815, ligne 1. Au lieu de : pouvoir antimicrobien peu marqué ; lire : pouvoir antimicrobien peu marqué,

Page 816, dernière ligne. Au lieu de : nous étudierons, lire : nous étudierons d'abord.

Page 817, ligne 23. Au lieu de : nous suivons, lire : nous suivrons.

Page 823, ligne 31. Au lieu de : « réaction intoxication » et « intoxication paralysie... », lire : réaction = intoxication » et « intoxication = paralysie... ».

Page 827, ligne 34. Au lieu de : engendrés, lire : engendrée.

Page 831, ligne 16. Au lieu de 12 à 16 heures, lire : 12 à 96 heures.

Page 836, avant-dernière ligne. Au lieu de : la note, lire : la notion.

---

## TABLE DES MATIÈRES

---

|   |     |
|---|-----|
| Etudes sur les bacilles paratyphyques, cultures, fonctions biologiques « <i>in vitro</i> », par MM. E. SACQUÉPÉE et F. CHEVREL.....                               | 4   |
| Etudes sur la fièvre jaune (2 <sup>e</sup> mémoire), par MM. E. MAR-<br>CHOUX et P.-L. SIMOND.....  | 16  |
| L'histologie pathologique de la syphilis héréditaire, dans ses rapports avec le « <i>spirochaete pallida</i> » (avec les planches I, II), par M. C. LEVADITI..... | 41  |
| Contribution à l'étude du méningocoque, par MM. P. VANSTEENBERGHE et GRISEZ.....  | 69  |
| Les <i>pasteurella</i> , par MM. CHAMBERLAND et JOUAN.....  | 81  |
| Etudes sur la fièvre jaune (3 <sup>e</sup> mémoire), par MM. E. MAR-<br>CHOUX et P.-L. SIMOND.....  | 104 |
| De l'anti-endotoxine typhique, par M. BESREDKA.....   | 149 |
| La culture des microbes anaérobies appliquée à l'analyse des eaux, par M. ALFRED GUILLEMARD.....  | 154 |
| Etudes sur la fièvre jaune (4 <sup>e</sup> mémoire). (avec les planches III à XXIII), par MM. E. MARCHOUX et P.-L. SIMOND.  | 161 |
| De l'action du radium sur le virus rabique, par M. J. DANYSZ.....   | 206 |
| Note sur une toxine produite par <i>l'aspergillus fumigatus</i> , par MM. E. BODIN et L. GAUTIER.....   | 209 |
| Sur l'origine des anticorps, précipitines et agglutinines, par MM. R. KRAUS et J. SCHIFFMANN.....   | 225 |
| Etudes épidémiologiques et prophylactiques du paludisme. 4 <sup>e</sup> campagne en Algérie. 1905, par MM. EDMOND et ETIENNE SERGENT.....                         | 241 |
| Trypanosomiase des chevaux de l'Annam, par M. J.-J. VASSAL.....   | 256 |
| Recherches expérimentales sur la trypanosomiase des chevaux de l'Annam. Comparaison avec le <i>Surra</i> , par MM. A. LAVERAN et F. MESNIL.....                   | 296 |
| Des endotoxines solubles, typhique, pesteuse et dysentérique, par M. BESREDKA.....  | 304 |
| Sur une spirillose d'un Chéiroptère ( <i>Vespertilio Kuhli</i> ), (avec la planche XXIV), par MM. C. NICOLLE et C. COMTE.   | 311 |

## TABLE DES MATIERES

4051

|  |     |
|--|-----|
| Le sérum antidysentérique, par MM. L. VAILLARD et Cie,<br>DOPTER.....  | 321 |
| Origine intestinale de la tuberculose pulmonaire et méca-<br>nisme de l'infection tuberculeuse, par MM. A. CALMETTE<br>et C. GUÉRIN.....                   | 353 |
| Etudes épidémiologiques et prophylactiques du paludisme,<br>4 <sup>e</sup> campagne en Algérie. 1905, par MM. EDMOND et<br>ETIENNE SERGENT.....            | 364 |
| Recherches expérimentales sur la lèpre (avec la pl. XXV).<br>par M. CHARLES NICOLLE.....   | 389 |
| Bacillus putrificus, par M. BIENSTOCK.....   | 407 |
| Traitemennt des trypanosomiases par les couleurs de benzi-<br>dine. — 1 <sup>re</sup> partie. Etude chimique, par MM. M. NICOLLE<br>et F. MESNIL.....      | 417 |
| Transmission de la péripneumonie des bovidés aux espèces<br>ovine et caprine, par M. ED. DUJARDIN-BEAUMETZ.....  | 449 |
| Sur les relations des sensibilisatrices avec l'alexine, par<br>MM. J. BORDET et FRÉDÉRICK GAY.....   | 467 |
| De l'action du streptocoque et de sa lysine, introduits par<br>voie buccale, et de quelques questions qui s'y ratta-<br>chent, par M. A. TCHITCHKINE.....  | 499 |
| Les vaccinations antirabiques à l'Institut Pasteur en 1905,<br>par M. J. VIALA.....  | 509 |
| Traitemennt des trypanosomiases par les couleurs de benzi-<br>dine. — 2 <sup>re</sup> partie. Etude expérimentale, par MM. F.<br>MESNIL et M. NICOLLE..... | 513 |
| Injection des couleurs de benzidine aux animaux nor-<br>maux. — Etude expérimentale et histologique, par<br>M. G. BOUFFARD.....                            | 539 |
| Récolte et conservation des Diptères, particulièrement des<br>espèces qui piquent pour sucer le sang, par M. E.-L.<br>BOUVIER.....                         | 547 |
| Culture du trypanosome de la grenouille ( <i>trypanosoma</i><br><i>rotarium</i> ) (avec la planche XXVI), par M. G. BOUET...                               | 564 |
| Recherches sur la toxine et l'antitoxine cholériques, par<br>MM. BRAU et DENIER.....   | 578 |
| Nouvelles recherches sur la spirillose des poules (avec la<br>planche XXVII), par MM. LEVADITI et MANOUÉLIAN.....  | 593 |

|   |     |
|---|-----|
| Un sérum toxique pour les nerfs périphériques, par M. A. SCHMIDT.....   | 601 |
| Origine intestinale de la tuberculose pulmonaire et mécanisme de l'infection tuberculeuse (3 <sup>e</sup> mémoire), par MM. A. CALMETTE et C. GUÉRIN..... | 609 |
| Etudes sur la morve expérimentale du cobaye, par M. M. NICOLLE.....   | 625 |
| Etudes sur les trypanosomiases de Berbérie en 1905, par MM. EDMOND et ETIENNE SERGENT.....  | 665 |
| De l'action du radium sur le virus rabique (Réponse à nos contradicteurs), par MM. G. TIZZONI et A. BONGIOVANNI.  | 682 |
| Sensibilité des ruminants et des singes au trypanosome de la dourine, par MM. F. MESNIL et J. ROUGET.....   | 689 |
| Etudes sur la morve expérimentale du cobaye (suite), par MAURICE NICOLLE.....   | 698 |
| Le microbe de la coqueluche (avec la pl. XXVIII), par les Drs J. BORDET et O. GENGOU.....   | 731 |
| Contribution à l'étude de l'épithélioma contagieux des oiseaux (avec les pl. XXIX et XXX), par le Dr E. BURNET.....                                       | 742 |
| Des relations de la fièvre tropicale avec la quarte et la tierce, d'après des observations prises au Sénégal, par le Dr THIROUX.....                      | 766 |
| Contribution à l'étude des corps intra-épithéliaux de Guarneri (avec partie de la pl. XXX), par H. ALDERSHOFF et C.-M. BROERS.....                        | 779 |
| Etudes expérimentales sur la syphilis (3 <sup>e</sup> mémoire), par MM. E. METCHNIKOFF et EM. ROUX.....   | 785 |
| Etudes sur la morve expérimentale du cobaye (fin), par M. MAURICE NICOLLE.....  | 801 |
| Contribution à l'étude des sérum névrotoxiques et des lésions qu'ils provoquent (avec la pl. XXXI), par M. P.-F. ARMAND-DELILLE.....                      | 838 |
| Recherches sur le mécanisme de la destruction des cellules nerveuses (avec la pl. XXXII), par M. J. MANOUÉLIAN...   | 859 |
| Sur les relations de la fièvre tropicale avec la quarte et la tierce (fin), par le Dr THIROUX.....  | 869 |
| Sur un nouveau microbe producteur d'acétone, par M. L. BRÉAUDAT .....   | 874 |

|   |      |
|---|------|
| Transformation réversible du trioxyméthylène en méthanal. Application à l'étude de la stérilisation par le méthanal sec aux températures élevées, par L. PERDRIX. | 881  |
| Actions diastasiques réversibles. Formation et dédoublement des éthers-sels sous l'influence des diastases du pancréas, par HENRI POTTÉVIN.....                   | 901  |
| La spirillose des embryons de poulet dans ses rapports avec la tréponémose héréditaire de l'homme.....  | 924  |
| Observations sur la phagacytose « <i>in vitro</i> », par le Dr M. LÖHLEIN.....  | 939  |
| Dosage de la matière albuminoïde non transformée dans les fromages, par MM. TRILLAT et SAUTON.....  | 962  |
| Note sur une maladie sphacellaire des bovidés du Paraguay, par MM. ELMASSIAN et URIZAR.....   | 969  |
| Action du ferment bulgare sur le lait, par MM. G. BERTRAND et G. WEISWEILLER.....   | 977  |
| Le dosage de la matière albuminoïde du lait. Étude d'un nouveau procédé, par MM. TRILLAT et SAUTON.....   | 991  |
| Des Tropismes du « <i>Bacterium zopfii</i> » Kurth (première note), par M. Ed. SERGENT.....   | 1005 |
| Contribution à l'étude des sérum hémolytiques, par L. REMY.....   | 1018 |
| Errata.....   | 1049 |
| Tables.....   | 1050 |

## TABLE DES PLANCHES

---

|                              |                               |     |
|------------------------------|-------------------------------|-----|
| Pl. I et II.....             | Mémoire de M. LEVADITI.....   | 41  |
| Pl. III à XXII.....          | — MM. MARCHOUX et SIMOND..... |     |
|                              | 16 404 et                     | 161 |
| Pl. XXIV.....                | — M. NICOLLE Ch. et COMTE...  | 314 |
| Pl. XXV.....                 | — MM. Ch. NICOLLE.....        | 390 |
| Pl. XXVI.....                | — M. BOUET.....               | 564 |
| Pl. XXVII.....               | — MM. LEVADITI et MANOUÉLIAN. | 593 |
| Pl. XXVIII.....              | — MM. BORDET et GENGOU.....   | 731 |
| Pl. XXIX et XXX.....         | — M. BURNET.....              | 742 |
| Pl. XXX (partie inférieure). | — MM. ALDERSHOFF et BROERS..  | 779 |
| Pl. XXXI.....                | — M. ARMAND-DEILLE.....       | 838 |
| Pl. XXXII.....               | — M. MANOUÉLIAN.....          | 859 |
| Pl. XXXIII et XXXIV.....     | — M. LEVADITI.....            | 924 |

---

# TABLE ALPHABÉTIQUE PAR NOMS D'AUTEURS

---

|  | Pages. |
|--|--------|
| ALDERSHOFF (H.) et<br>BROERS (C.-M.).....  | 779    |
| ARMAND-DELILLE (P.-F.)...                  | 838    |
| BERTRAND (G.) et WEIS-<br>WEILLER.....     | 977    |
| BESREDKA.....                              | 149    |
| BIENSTOCK.....                             | 304    |
| BODIN (E.) et GAUTIER (L.)..               | 407    |
| BONGIOVANNI (A.).....                      | 209    |
| BORDET (J.) et GAY (FRED.)..               | 682    |
| — et GENGOU (O.)...                        | 467    |
| BOUET (G.).....                            | 731    |
| BOUFFARD (G.).....                         | 564    |
| BOUVIER (E. L.).....                       | 539    |
| BRAU et DENIER.....                        | 547    |
| BREAUDAT (L.).....                         | 578    |
| BROERS (C.-M.).....                        | 874    |
| BURNET (E.).....                           | 742    |
| CALMETTE (A.) et GUÉRIN (C.)..             | 333    |
| —  | 609    |
| CHAMBERLAND (Ch.) et JOUAN.                | 81     |
| CHREVREL (F.).....                         | 4      |
| COMTE (C.).....                            | 311    |
| DANYSZ (J.).....                           | 206    |
| DENIER.....                                | 578    |
| DOPTER (Ch.).....                          | 321    |
| DUJARDIN-BEAUMETZ (Ed.)..                  | 449    |
| ELMASSIAN et URIZAR (R.)..                 | 969    |
| GAUTIER (L.).....                          | 209    |
| GAY (F.).....                              | 467    |
| GENGOU (O.).....                           | 731    |
| GRISEZ .....                               | 69     |
| GUÉRIN (C.).....                           | 333    |
| —  | 609    |
| GUILLEMARD (ALF.).....                     | 154    |
| JOUAN.....                                 | 81     |
| KRAUSS (R.) et SCHIFF-<br>MANN (J.).....   | 225    |
| LAVERAN (A.) et MESNIL (F.)..              | 296    |
| LEVADITI (C.).....                         | 41     |
| — et MANOUÉLIAN .....                      | 593    |
| —  | 924    |
| Corps épithéliaux de Guarnieri.....        | 779    |
| Sérum névrotoxique.....                    | 838    |
| Action du ferment bulgare sur le lait..... | 977    |
| Anti-endotoxine typhique.....              | 149    |
| Endotoxines solubles.....                  | 304    |
| Bacillus putrifacetus.....                 | 407    |
| Toxine de l'Aspergillus fumigatus.....     | 209    |
| Voir TIZZONI.....                          | 682    |
| Sensibilisatrices et alexine.....          | 467    |
| Le microbe de la coqueluche.....           | 731    |
| Trypanosome de la grenouille.....          | 564    |
| Injections des couleurs de benzidine.....  | 539    |
| Récolte et conservation des Diptères.....  | 547    |
| Toxine et antitoxine cholériques.....      | 578    |
| Nouveau microbe producteur d'acétone ..    | 874    |
| Voir ALDERSHOFF.....                       | 779    |
| Épithélioma contagieux des oiseaux.....    | 742    |
| Origine intestinale de la Tuberculose..... | 333    |
| —  | 609    |
| Les pasteurella.....                       | 81     |
| Voir SACQUÉPÉE.....                        | 4      |
| Voir NICOLLE (C.).....                     | 311    |
| Action du radium sur le virus rabique ..   | 206    |
| Voir BRAU.....                             | 578    |
| Voir VAILLARD.....                         | 321    |
| Péripneumonie des bovidés.....             | 449    |
| Maladie sphacellaire des bovidés.....      | 969    |
| Voir BODIN.....                            | 209    |
| Voir BORDET.....                           | 467    |
| —  | 731    |
| Voir VANSTEENBERGHE .....                  | 69     |
| Voir CALMETTE.....                         | 333    |
| —  | 609    |
| Microbes anaérobies et analyse des eaux    | 154    |
| Voir CHAMBERLAND.....                      | 81     |
| Origine des anticorps.....                 | 225    |
| Trypanosomiase des chevaux de l'Annam ..   | 296    |
| Histologie de la spirillose héréditaire .. | 41     |
| Sur la spirillose des poules.....          | 593    |
| La spirillose des embryons de poulet ..    | 924    |

|                                 |  |                |
|---------------------------------|--|----------------|
| LÖHLEIN (M.)                    | Phagocytose <i>in vitro</i>  | 939            |
| MANOUÉLIAN                      | Voir LEVADITI  | 593            |
| MARCHOUX (E.) et SIMOND (P.-L.) | Mécanisme de la destruction des cellules nerveuses                   | 839            |
| MESNIL (F.)                     | Etudes sur la fièvre jaune   | 16             |
| —                               | —  | 104            |
| —                               | —  | 101            |
| MESNIL (F.) et NICOLLE (M.)     | Voir LAVERAN   | 296            |
| — et NICOLLE (M.)               | Voir NICOLLE (M.)  | 417            |
| — et ROUGET (F.)                | Trypanosomiases et couleurs de benzidine                             | 543            |
| METCHNIKOFF (E.) et ROUX (Em.)  | Sensibilité des ruminants et des singes au Trypanosome de la dourine | 689            |
| NICOLLE (C.) et COMTE (C.)      | Etudes sur la syphilis   | 783            |
| NICOLLE (M.) et MESNIL (F.)     | Spirillose d'un Chéioptère   | 341            |
| —                               | Recherches expérimentales sur la lèpre                               | 389            |
| —                               | Trypanosomiases et couleurs de benzidine                             | 417            |
| —                               | Voir MESNIL  | 513            |
| —                               | Morve expérimentale du cobaye  | 625            |
| —                               | —  | 698            |
| —                               | Transformation réversible du trioxy-méthylène                        | 881            |
| PERDRIN (L.)                    | Actions diastasiques réversibles                                     | 901            |
| POTTEVIN (H.)                   | Contribution à l'étude des sérum s hémolytiques                      | 1018           |
| REMY (L.)                       | Voir MESNIL  | 689            |
| ROUET (J.)                      | Voir METCHNIKOFF   | 783            |
| ROUX (Em.)                      | Bacilles paratyphiques   | 4              |
| SACQUÉPÉE (E.) et CHERVREL (F.) | Voir TRILLAT   | 962            |
| SAUTON                          | Voir KRAUSS  | 225            |
| SCHIFFMANN (J.)                 | Sérum toxique pour les nerfs périphériques                           | 601            |
| SCHMIDT (A.)                    | Des Tropismes du « Bacterium zopfii »                                |                |
| SERGENT (EDMOND)                | Kurth  | 1005           |
| SERGENT (Ed.) et SERGENT (Et.)  | Études prophylactiques du paludisme en Algérie (1905)                | 241            |
| —                               | —  | 364            |
| SIMOND (P.-L.)                  | Trypanosomiases de Berbérie (1905)                                   | 663            |
| TSCHITSCHKINE (A.)              | Voir MARCHOUX  | 16, 404 et 461 |
| THIROUX                         | Du streptocoque et de sa lysine                                      | 499            |
| —                               | Fièvres tropicales, quarte et tierce au Sénégal                      | 766            |
| —                               | —  | 869            |

## TABLE DES MATIÈRES

1057

|  |  |     |
|--|--|-----|
| TRILLAT et SAUTON . . . . .                | Matière albuminoïde des fromages . . . . .                         | 961 |
| URIZAR (R.) . . . . .                      | Voir ELMASSIAN . . . . .   | 969 |
| VAILLARD (L.) et DOPTER (CH.)              | Le sérum antidysentérique . . . . .                                | 321 |
| VANSTEENBERGHE (P.) et<br>GRYSEZ . . . . . | Le méningocoque . . . . .  | 69  |
| VASSAL (J. J.) . . . . .                   | Trypanosomiase des chevaux de l'Annam . . . . .                    | 256 |
| VIALA (J.) . . . . .                       | Vaccinations antirabiques à l'Institut<br>Pasteur (1905) . . . . . | 509 |
| WEISWEILLER . . . . .                      | Voir G. BERTRAND . . . . .   | 977 |

# TABLE GÉNÉRALE DES TOMES XVI A XX

## MÉMOIRES ORIGINAUX

---

|   |        |     |
|---|--------|-----|
| ABBA. — Diagnostic histologique de la rage.....   | XIX.   | 49  |
| ACHALME (P.). — Recherches sur quelques bacilles anaérobies et leur différenciation.....  | XVI.   | 641 |
| — Observatiohs à propos du mémoire de MM. TISSIER et MARTELLY.....  | XVII.  | 79  |
| ADIL-BEY. — Voir NICOLLE M.....   | XVI.   | 56  |
| —   | XVI.   | 291 |
| ALDERSHOFF et BROERS (C.-M.). — Contribution à l'étude des corps intracellulaires et des cellules épithéliaux de Guarnieri..... | XX.    | 779 |
| ARMAND-DELILLE. — Contribution à l'étude des sérum s névrotoxiques et des lésions qu'ils provoquent.....                        | XX.    | 838 |
| ARNAL et SALMON (P.). — Anatomie pathologique des lésions syphilitiques chez les singes anthropoïdes.....                       | XVIII. | 465 |
| ATLASSOFF (J.). — La fièvre typhoïde expérimentale.....   | XVIII. | 701 |
| BERTRAND (G.). — Sur le bleuissement de certains champignons du genre boletus.....  | XVI.   | 179 |
| — Sur la recherche et l'existence de l'arsenic dans l'organisme.....  | XVI.   | 533 |
| — Nouvelles recherches sur l'arsenic de l'organisme, présence de ce métalloïde dans la série animale.....                       | XVII.  | 4   |
| — Sur l'existence de l'arsenic dans l'œuf des oiseaux.....  | XVII.  | 516 |
| EMPLOI de la bombe calorimétrique de M. Berthelot pour démontrer la présence de l'arsenic dans l'organisme.....                 | XVII.  | 581 |
| — Action de la lactase sur le gaiacol.....  | XVIII. | 446 |
| — Sur la composition chimique et la formule de l'adrénaline.....  | XVIII. | 672 |
| — et WEISWEILLER. — Action du ferment bulgare sur le lait .....   | XX.    | 977 |
| BESREDKA. — De l'immunisation active contre la peste, le choléra et l'infection typhique.....                                   | XVI.   | 918 |
| — De la fixation de la toxine tétanique par le cerveau. XVII.   | 438    |     |
| — Le sérum antistreptococcique et son mode d'action .....   | XVIII. | 363 |
| — Etudes sur le bacille typhique et le bacille de la peste.....   | XIX.   | 477 |
| — De l'anti-endotoxine typhique.....  | XX.    | 149 |
| — Des endotoxines solubles, typhique, pesteuse et dysentérique .....  | XX.    | 304 |
| — et DOPTER. — Contribution à l'étude du rôle des streptoco-  |        |     |

## TABLE DES MATIÈRES

1059

|   |        |     |
|---|--------|-----|
| ques au cours de la scarlatine.....   | XVIII. | 373 |
| BIENSTOCK. — Anérobies et symbiose.....   | XVII.  | 850 |
| — Bacillus putrificus.....  | XX.    | 407 |
| BILLÉT (A.). — Contribution à l'étude du paludisme et de son hématozoaire en Algérie (Constantine).....                   | XVI.   | 185 |
| BODIN (E.) et CASTEX (E.). — Appareil pour l'agitation continue des cultures.....   | XVIII. | 264 |
| — et GAUTIER (L.). — Sur une toxine produite par l'aspergillus fumigatus.....   | XX.    | 209 |
| BONGIOVANNI (A.). — Voir TIZZONI.....   | XX.    | 682 |
| BORDET. — Mode d'action des antitoxines sur les toxines.....  | XVII.  | 461 |
| — et GENGOU (O.). — Sur la coagulation du sang.....   | XVII.  | 822 |
| — — — — — contribution à l'étude du plasma fluoré.....  | XVIII. | 26  |
| — — — — — Sur la coagulation du sang, sur le pouvoir coagulant du serum.....  | XVIII. | 98  |
| — — — — — Le microbe de la coqueluche.....  | XX.    | 731 |
| — et GAY Frédéric. — Relations des sensibilisatrices avec l'alexine.....  | XX.    | 467 |
| — Propriétés des antisensibilisatrices et les théories chimiques de l'immunité.....                                       | XVIII. | 593 |
| — Méthode de culture des anaérobies.....  | XVIII. | 332 |
| BORREL (A.). — Etude expérimentale de la clavelée, filtration du virus, séro-clavelisation, sérothérapie.....             | XVII.  | 423 |
| — — — — — XVII.   | XVII.  | 732 |
| — — — — — Epithélioses infectieuses et épithéliomas.....  | XVII.  | 81  |
| BORMANS. — Voir ABBA.....   | XIX.   | 49  |
| BOUET. — Culture du trypanosome de la grenouille.....   | XX.    | 564 |
| BOUFFARD (G.). — Injections des couleurs de benzidine aux animaux normaux : étude expérimentale et histologique.....      | XX.    | 539 |
| BOULLANGER (E.) et MASSOL (L.). — Sur les microbes nitrificateurs.  | XVII.  | 492 |
| — — — — — XVIII.  | XVIII. | 481 |
| BOULLANGER (E.). — Voir CALMETTE.....   | XIX.   | 529 |
| BOUVIER (E.-L.). — Récolte et conservation des Diptères, particulièrement des espèces qui piquent pour sucer le sang..... | XX.    | 547 |
| BRAU. — Sur une épidémie cholérique localisée, d'origine manifestement hydrique.....                                      | XIX.   | 814 |
| — et DENIER. — Recherches sur la toxine et l'antitoxine cholériques.....  | XX.    | 578 |
| BRAUN (A.). — Recherche du bacille d'Eberth, son importance au point de vue de la prophylaxie de la fièvre typhoïde.....  | XIX.   | 578 |
| BRÉAUDAT (L.). — Nouveau microbe producteur d'acétone.....  | XX.    | 874 |
| BROERS (C.-M.). — Voir ALDERSHOFF.....  | XX.    | 779 |
| BUFFARD (M.). — Voir SCHNEIDER.....   | XIX.   | 715 |

|  |        |     |
|--|--------|-----|
| BURNET (E.). — Etude de l'épithélioma contagieux des oiseaux...  | XX.    | 742 |
| CAGNETTO (Jean). — Sur une variété de tuberculose zoogélique et de ses rapports avec la pseudo-morve.....  | XIX.   | 449 |
| CALMETTE (A.). — Contribution à l'étude de l'épuration des eaux résiduaires des villes et des industries.....                                    | XVIII. | 481 |
| — BOULLANGER (E.) et ROLANTS (E.). — Contribution à l'étude de l'épuration des eaux résiduaires des villes et des industries des industries..... | XIX.   | 529 |
| — et GUÉRIN (C.). — Origine intestinale de la tuberculose pulmonaire. XIX. 604 et XX. 353 et   |        | 609 |
| CANTACUZÈNE (J.). — Recherches sur le mode de résorption des cellules hépatiques injectées dans l'organisme.....                                 | XVI.   | 522 |
| — — Recherches sur la maladie expérimentale provoquée par l'inoculation des bacilles tuberculeux dégraissés.....                                 | XIX.   | 699 |
| CAROUGEAU. — Sur la durée de la présence du microbe de la peste injecté vivant dans les veines du cheval.....                                    | XVI.   | 842 |
| CASTEX (E.). — Voir BODIN.....   | XVIII. | 264 |
| CHALTIEL (J.). — Voir Ch. NICOLLE.....   | XVIII. | 644 |
| CHAMBERLAND et JOUAN. — Les pasteurella.....   | XX.    | 81  |
| CHARPENTIER (P.-G.). — Alimentation azotée d'une algue, le Cystococcus Humicola.....   | XVII.  | 321 |
| — — Sur la physiologie d'une algue verte....   | XVII.  | 369 |
| CHEVREL (F.). — Voir SACQUÉPÉE.....  | XX.    | 4   |
| COMTE (C.). — Voir Ch. NICOLLE.....  | XX.    | 314 |
| CRUVEILHIER (L.). — Valeur thérapeutique des injections de sérum dans la diphtérie.....  | XVIII. | 41  |
| — — De la valeur thérapeutique de l'antitoxine dans le sérum antidiplétique.....   | XIX.   | 249 |
| DANYSZ (J.). — Etude des propriétés et de la nature des mélanges des toxines avec leurs antitoxines.....   | XVI.   | 331 |
| — et WIZE (K.). — Les Entomophytes du charançon de la betterave à sucre.....   | XVII.  | 421 |
| — — De l'action du radium sur le virus rabique.....  | XX.    | 206 |
| DEBRAND (L.). — Nouveau procédé de culture du tétonas.....   | XVI.   | 427 |
| DEFALLE (J.). — Recherches sur le rôle de l'enveloppe des microbes dans l'agglutination.....   | XVI    | 595 |
| — — Sur les anticorps des spores.....  | XVI    | 736 |
| DENIER. — Voir BRAU.....   | XX     | 578 |
| DIENERT (F.). — Méthodes employées pour la surveillance des eaux d'alimentation.....   | XIX    | 541 |
| DMITRIEVSKY (K.). — Sur les propriétés antitétaniques des centres nerveux de l'animal immunisé.....  | XVII   | 448 |
| DOPTER (Ch.). — Voir VAILLARD.....   | XVII   | 463 |
| — — Voir BESREDKA.....   | XVIII  | 373 |

## TABLE DES MATIÈRES

1061

|  |                |     |
|--|----------------|-----|
| DOPTER (Ch.). — Sur quelques points relatifs à l'action pathogène de l'amibe dysentérique.....         | XIX            | 417 |
| — Effets expérimentaux de la toxine dysentérique sur le système nerveux.....                           | XIX            | 353 |
| — Sensibilisatrice spécifique dans le sérum des animaux vaccinés et des malades.....                   | XIX            | 753 |
| — Voir VAILLARD.....   | XX             | 321 |
| DUBOURG (E.). — Voir GAYON.....  | XVIII          | 385 |
| DUBOIS (A.). — Dissociation des propriétés agglutinante et sensibilisatrice des sérum spécifiques..... | XVI            | 690 |
| DUCLAUX (E.). — L'alcool est-il un aliment ? ( <i>Revue</i> ).....                                     | XVI            | 857 |
| — Ce que c'est qu'un aliment.....  | XVII           | 307 |
| — Etudes d'hydrographie souterraine. XVII, 523, 640, 857; XVIII, 121, 197 et.....                      | 269            |     |
| — L'acool et ses droits naturels.....  | XVII           | 770 |
| DUJARDIN-BEAUMETZ (Ed.). — De la transmission de la péripneumonie des bovidés.....                     | XX             | 449 |
| DUPRAT (A.). — Contribution clinique à la sérothérapie de la peste .....                               | XVII           | 599 |
| ELMASSIAN et MIGONE (E.). — Sur le mal de Caderas.....   | XVII           | 241 |
| — Mal de Caderas chez les animaux domestiques.....   | XVIII          | 587 |
| — et URIZAR. — Maladie sphacellaire des bovidés.....   | XX             | 969 |
| ETARD (A.). — Méthode d'hydrolyse des protoplasmides.....  | XVII           | 74  |
| FALLOISE. — Etudes des sérum précipitants.....   | XVI            | 833 |
| FERRÉ (G.). — Institut antirabique de Bordeaux.....  | XVI            | 391 |
| FREITAS (O. DE). — L'Institut Pasteur de Pernambuco.....   | XVII           | 609 |
| FERNBACH (A.) et WOLFF. — Coagulation de l'amidon.....   | XVIII          | 163 |
| FORSSMANN et LUNDSTROM. — Courbe d'antitoxine dans le botulisme .....                                  | XVI            | 294 |
| FOURNIER (A.). — Crachoir stérilisable.....  | XVII           | 447 |
| GASCHING (P.). — Voir TISSIER.....   | XVII           | 540 |
| GAUTIÉ (Albert). — Le colibacille dans les eaux d'alimentation.....                                    | XIX            | 124 |
| GAUTIER (L.). — Voir BODIN.....  | XX             | 209 |
| GAY (F.). — Déviation de l'alexine dans l'hémolyse.....  | XIX            | 593 |
| — Voir BORDET.....   | XX             | 467 |
| GAYON (U.) et F. DUBOURG. — Fermentation mannitique.....   | XVIII          | 385 |
| GENGOU. — Sensibilité des sérum actifs.....  | XVI            | 734 |
| — Voir BORDET.....   | XVII           | 822 |
| — agglutination des globules rouges.....   | XVIII          | 98  |
| — Voir BORDET.....   | XX             | 731 |
| GESSEND (C.). — Biologie du bacille pyocyanique.....   | XVI            | 313 |
| GIEMSA (G.). — Coloration des protozoaires (réponse).....  | XIX            | 346 |
| GOEBEL. — Ganglions nerveux périphériques.....   | XVI            | 904 |
| GRADWOHL (R. B. H.). — Examen bactériologique des cadavres. XVIII                                      | 767            |     |
| GRIZEZ. — Voir VANSTENBERCHE.....  | XIX, 786 et XX | 69  |

|  |                       |     |
|--|-----------------------|-----|
| GUÉRIN (C.). — Valeur des vaccins jennériens.....                      | XIX                   | 317 |
| — Voir CALMETTE.....   | XIX, 601 ; XX, 353 et | 609 |
| GUILLEMARD (Alfred). — Les anaérobies et l'analyse des eaux.....       | XX                    | 134 |
| HAALAND. — Les tumeurs de la souris.....                               | XIX                   | 165 |
| HAUMAN (L.). — Rouissement aérobie du lin.....                         | XVI                   | 379 |
| HIMMEL (J.). — Le rouge neutre et la phagocytose.....                  | XVI                   | 663 |
| IWANOW. — Bacille de la lèpre dans l'organisme des animaux.....        | XVI                   | 705 |
| JOUAN. — Voir CHAMBERLAND.....   | XX                    | 81  |
| KHOURY (J.). — Voir RIST.....  | XVI                   | 65  |
| KOMOTZKI. — Lésions vasculaires par les toxines diphthériques.....     | XVI                   | 136 |
| KOTZEVALOFF (S.). — Statistique de l'Institut Pasteur de Kharkoff..... | XVII                  | 614 |
| KRAMITSKI (V.). — Immunisation antirabique.....                        | XVI                   | 393 |
| KRAUS (R.) et J. SCHIFFMANN. — Origine des anticorps.....              | XX                    | 225 |
| LAMBOTTE (U.). — Microbe de la loque.....                              | XVI                   | 694 |
| LANDAU (H.). — Etudes sur l'hémolyse.....                              | XVII                  | 52  |
| LATAPIE. — Broyeur pour préparer les pulpes d'organes.....             | XVI                   | 947 |
| LAVERAN (A.) et F. MESNIL. — Trypanosome du Nagana.....                | XVI                   | 4   |
| — Traitement et prévention du Nagana.....                              | XVI                   | 785 |
| — Trypanosomiase des chevaux de l'Annam.....                           | XX                    | 296 |
| LECLAINCHE et VALLÉE. — Accidents consécutifs aux vaccinations. XVI    | XVI                   | 614 |
| — Recherches sur le charbon symptomatique.....                         | XVI                   | 931 |
| LEDOUX-LEBARD. — Action du sérum sanguin sur les paraméries. XVI       | XVI                   | 510 |
| — Action de la lumière sur la toxicité de l'éosine. XVI                | XVI                   | 587 |
| LEPOUTRE (L.). — Transformation expérimentale de bactéries. XVI        | XVI                   | 306 |
| LESAGÉ (A.). — Culture de l'amide de la dysenterie.....                | XIX                   | 9   |
| LEVADITI (C.). — Anémie expérimentale.....                             | XVI                   | 233 |
| — Sur les hémolysines cellulaires.....                                 | XVII                  | 487 |
| — La spirillose des poules. XVIII, 429 ; XX, 593 et                    | XVII                  | 924 |
| — Origine des anticorps.....   | XVIII                 | 514 |
| — Voir WALLICH.....  | XIX                   | 321 |
| — Action fractionnée des toxines.....                                  | XIX                   | 516 |
| — Histologie de la syphilis héréditaire.....                           | XX                    | 41  |
| VAN LOGHEM (J. J.). — Pathologie de la goutte.....                     | XVIII                 | 468 |
| LOHLEIN. — Phagocytose de microbes pathogènes.....                     | XIX                   | 647 |
| — Observation sur la phagocytose <i>in vitro</i> . XX                  | XVII                  | 939 |
| LOIR (A.). — Statistique antirabique de Tunis.....                     | XVI                   | 386 |
| — La rage dans l'Afrique du Sud.....                                   | XVII                  | 298 |
| LUBOMOUDROV (P.). — Injections salines prophylactiques.....            | XIX                   | 573 |
| LUNDSTROM. — Voir FORSSMAN.....  | XVI                   | 294 |
| MALFITANO. — Influence de l'oxygène sur la protéolyse.....             | XVI                   | 853 |
| MALVOZ. — Fixateurs du sérum normal de chien.....                      | XVI                   | 623 |
| — Sur les cils composés.....   | XVI                   | 686 |
| MANOUÉLIAN. — Voir LEVADITI.....                                       | XX                    | 593 |
| — Mécanisme de la destruction des cellules nerveuses. XX               | XX                    | 859 |

## TABLE DES MATIÈRES

1063

|  |                            |     |
|--|----------------------------|-----|
| MARCHOUX et SALIMBENI (A.). — La garotilha.....  | XVII                       | 564 |
| — — — La spirillose des poules.....  | XVII                       | 569 |
| — — — et SIMOND. — La fièvre jaune.....  | XVII                       | 665 |
| — et SIMOND. — La fièvre jaune.....  | XX, 16, 404 et             | 164 |
| MARIE (A.). — Voir MORAX.....  | XVI                        | 418 |
| — et MORAX. — Absorption de la toxine tétanique.....   | XVI                        | 818 |
| — Voir MORAX.....  | XVII                       | 333 |
| — Recherches sur le sérum antirabique.....   | XIX                        | 1   |
| MARINO (F.). — Sur les neutrophiles d'Ehrlich.....   | XVII                       | 357 |
| — Coloration des protozoaires.....   | XVIII                      | 761 |
| — Réponse à M. Giemsa.....   | XIX                        | 331 |
| — Les microbes vivants et la solution de bleu azur..   | XIX                        | 816 |
| MARMIER. — Chauffage électrique des étuves.....  | XVI                        | 779 |
| MARMORECK (A.). — La toxine streptococcique.....   | XVI                        | 169 |
| — Streptocoques pathogènes pour l'homme.....   | XVI                        | 472 |
| MASSOL (L.). — Voir BOULLANGER.....  | XVII, 492 ; XVIII, 181, et | 277 |
| MAZÉ (P.). — Utilisation des aliments ternaires.....   | XVI, 195, 346 et           | 433 |
| — Nouvelles races de levures de lactose.....   | XVII                       | 41  |
| — Isolement de la zymase des tissus animaux.....   | XVIII                      | 378 |
| — et PAGOTTET (P.). — Ferments de maladies des vins....  | XVIII                      | 243 |
| — et PERRIER (A.). — Production de la mannite.....   | XVII                       | 587 |
| — — — Rôle des microbes dans la fermentation alcoo-<br>lique.....                                    | XVIII                      | 382 |
| — — — Combustion respiratoire.....   | XVIII                      | 553 |
| — — — Assimilation de substances ternaires par les<br>végétaux à chlorophylle.....                   | XVIII                      | 721 |
| — — — Les microbes dans l'industrie fromagère.....   | XIX, 378, et               | 481 |
| MESNIL (F.). — Voir LAVERAN .....  | XVI 4, 785; XX             | 296 |
| — — — METCHNIKOFF.....   | XVI                        | 912 |
| — — — NICOLLE (M.).....  | XX                         | 417 |
| — et NICOLLE (M.). — Lés trypanosomiases et les couleurs de<br>benzidine.....                        | XX                         | 513 |
| — et ROUGET. — Sensibilité des ruminants et des singes au<br>trypanosome de la dourine.....          | XX                         | 689 |
| METCHNIKOFF, MESNIL et WEINBERG. — La veillesse des perroquets..                                     | XVI                        | 912 |
| METCHNIKOFF (El.) et ROUX (Em.). — Etudes sur la syphilis. XVII 809 ;<br>XVIII, 4, 657; XIX, 673; XX | 785                        |     |
| MIGONE (E.). — Voir ELMASSIAN.....   | XVII, 241; XVIII           | 587 |
| MIONI (G.). — Etude des hémolysines naturelles.....  | XIX                        | 84  |
| MORAX (V.) et MARIE (A.). — Action de la chaleur sur la toxine téta-<br>nique .....                  | XVI                        | 418 |
| — Voir MARIE .....   | XVI                        | 817 |
| — et MARIE. — Absorption de la toxine tétanique.....   | XVII                       | 333 |
| MOTAS. — Voir NOGARD.....  | XVI                        | 257 |
| MOUTON (H.). — Digestion chez les amibes.....  | XVI                        | 458 |

|  |                    |      |
|--|--------------------|------|
| MUSTAPHA EFFENDI. — Voir REMLINGER                                 | XVIII              | 241  |
| NICOLLE (Ch.) et THENEL. — Phénomène de l'agglutination            | XVI                | 562  |
| — Inoculation de la syphilis au singe                              | XVII               | 636  |
| — Agglutination des microbes (suite)                               | XVIII              | 209  |
| — et CHALTIEL. — Expériences concernant la rage                    | XVIII              | 644  |
| — Statistique antirabique à Tunis                                  | XVIII              | 654  |
| — et COMTE. — Spirillose d'un Chéiropètre                          | XX                 | 311  |
| — Recherches expérimentales sur la lèpre                           | XX                 | 389  |
| NICOLLE (M.) et ADIL-BEY. — Sur la peste bovine                    | XVI                | 56   |
| — — — Sur la malaria des bovidés                                   | XVI                | 291  |
| — — — Pasteurelloses observées en Turquie                          | XVI                | 775  |
| — et MESNIL. — Trypanosomiases et couleurs de benzidine            | XX                 | 417  |
| — Voir MESNIL  | XX                 | 513  |
| — Morve expérimentale du cobaye                                    | XX, 625, 698 et    | 801  |
| NOC (F.). — Propriétés physiologiques des venins de serpents       | XVIII              | 387  |
| — Propriétés bactériolytiques des venin de cobra                   | XIX                | 209  |
| NOCARD et MOTAS. — Piroplasmose canine                             | XVI                | 257  |
| NOIRÉ (H.). — Voir SABOURAUD                                       | XVIII              | 7    |
| NOURI (OSMAN.). — Voir REMLINGER                                   | XIX                | 266  |
| PACE (D.). — Virus rabique chez un enfant mort de rage             | XVII               | 293  |
| PAGOTTET (P.). — Voir MAZÉ   | XVIII              | 245  |
| PERDRIX (L.). — Transformation reversible du trioxyméthylène       | XX                 | 884  |
| PÉREZ-(CH.). — Résorption phagocytaire des ovules chez les tritons | XVII               | 617  |
| PERRIER (A.). — Voir MAZÉ  | XVII               | 587  |
| — — —  | XVIII, 382, 553 et | 721  |
| PERRONE. — Bactériologie de l'appendicite                          | XIX                | 367  |
| PETIT (R.). — Sérum de cheval injecté dans le péritoine            | XVIII              | 407  |
| PÉTROFF (N.). — Infection mixte dans la tuberculose chirurgicale   | XVIII              | 502  |
| — Tuberculose osseuse et troubles circulatoires                    | XVIII              | 590  |
| PORTIER (P.). — Glycolyse des organes des mammifères               | XVIII              | 633  |
| POTTEVIN (H.). — Configuration stéréochimique des glucosides       | XVII               | 34   |
| — Bactériologie des gastro-entérites infectieuses                  | XIX                | 426  |
| — Actions diastasiques reversibles                                 | XX                 | 901  |
| RÉFIK-BEY. — Modifications leucocytaires dans la peste bovine      | XVI                | 463  |
| REMLINGER. — Passage du virus rabique à travers les filtres        | XVII               | 834  |
| — et MUSTAPHA-EFFENDI. — Guérison de la rage chez le chien         | XVIII              | 241  |
| — et OSMAN NOURI. — Réaction de la tortue terrestre                | XIX                | 266  |
| — Accidents pâralytiques en traitement antirabique                 | XIX                | 628  |
| REMY (L.). — Substances actives des sérum normaux                  | XVII               | 343  |
| — Etude des sérum hémolytiques                                     | XIX, 765; XX       | 4018 |
| RIST (E.) et KOURY (J.). — Le Leben d'Égypte                       | XVI                | 65   |
| RODELLA (A.). — Putréfaction de la viande de boucherie (réponse)   | XVII               | 306  |
| — Répartition des microbes dans l'intestin du nourrisson           | XIX                | 404  |

|  |                           |     |
|--|---------------------------|-----|
| RODELLA (A.). — Différenciation du <i>Bacillus putrificus</i> .....  | XIX.                      | 803 |
| ROLANTS (E.). — Voir CALMETTE.....   | XIX.                      | 529 |
| ROUGET (J.). — Voir MESNIL.....  | XX.                       | 689 |
| ROUX (Em.). — Voir METCHNIKOFF. XVII, 809; XVIII, 4, 637, 673. XX. 785<br>— Notice sur la vie et les travaux E. DUCLAUX..... | XVIII.                    | 337 |
| RUATA (GUIDO). — Granulations dans les cultures de vibrios .....   | XIX.                      | 661 |
| SABOURAUD et NOIRÉ. — Teignes et Rayons X.....   | XVIII.                    | 7   |
| SABRAZÈS (J.). — Pseudo-tuberculose streptococcique du sur-<br>mulot .....   | XVI.                      | 97  |
| — Colorabilité des bacilles de Koch.....   | XVII.                     | 303 |
| SACQUÉPÉE (E.) et F. CHEVREL. — Bacilles paratyphiques.....  | XX.                       | 4   |
| SALIMBENI (A.). — Voir MARCHOUX.....   | XVII, 564, 569 et         | 665 |
| SALMON (P.). — Voir ARNAL.....   | XVIII.                    | 465 |
| SALTYKOW. — Sérum normal dans la pneumo-entérite.....  | XVI.                      | 94  |
| SAUTON. — Voir TRILLAT.....  | XIX, 494 XX, 962 et       | 994 |
| SAVTCHENKO (J. B.). — Immunisines dans la phagocytose .....  | XVI.                      | 106 |
| SCHIFFMANN (J.). — Voir KRAUSS.....  | XX.                       | 225 |
| SCHMIDT (A.). — Sérum toxique pour les nerfs périphériques.....  | XX.                       | 604 |
| SCHNEIDER (G.-E.) et M. BUFFARD. — Unicité de la dourine.....  | XIX.                      | 745 |
| SERGENT (Ed.). — Levure de bière et suppuration.....   | XVII.                     | 634 |
| — Des Tropismes du « <i>Bactérium zopfii</i> » KURTH.. XX. 4003  |                           |     |
| SERGENT (Ed.) et SERGENT (Et.). — Anopheles de la banlieue<br>de Paris.....  | XVI.                      | 940 |
| — Moustiques des environs<br>d'Alger.....  | XVII.                     | 60  |
| — Campagne antipaludique en<br>Algérie (1902).....   | XVII.                     | 68  |
| — Gîtes à larves d'anophèles.. XVII.   | 763                       |     |
| — Campagne antipaludique se-<br>lon la méthode de Koch<br>(1903).....  | XVIII.                    | 49  |
| — Campagne antipaludique en<br>Algérie (1903) .....  | XVIII.                    | 64  |
| — Trypanosomiase des droma-<br>daires en Afrique .....   | XIX.                      | 47  |
| — Prophylaxie du paludisme en Algé-<br>rie..... XIX, 429; XX, 241 et   | 364                       |     |
| — Trypanosomiase de Berbérie<br>(1905).....  | XX.                       | 665 |
| SIEDLECKI (M.). — Amibocytes dans le cœlome d'un annélide... XVII.   | 449                       |     |
| SILBERSCHMIDT (W.). — Le subtilis dans la panophtalmie hu-<br>maine.....   | XVII.                     | 268 |
| SIMOND. — Voir MARCHOUX.....   | XVII, 663; XX, 46, 104 et | 161 |
| SWELLENGREBEL (N.). — Morphologie du <i>Bacterium zopfii</i> .....   | XVIII.                    | 712 |
| — Division nucléaire de la levure pressée.....   | XIX.                      | 503 |
| TARASSEVITCH. — Sur les cytases.....   | XVI.                      | 427 |
| TCHISTOVITCH (N.). — Pneumonie fibrineuse.....   | XVIII.                    | 304 |

|   |        |            |
|---|--------|------------|
| TCHITCHKINE (A.). — L'injection des bactéries sur les propriétés            |        |            |
| — du sérum sanguin.....   | XVIII. | 376        |
| — Immunisation contre la toxine botulique .....                             | XIX.   | 335        |
| — Du streptocoque et de sa lysine.....                                      | XX.    | 499        |
| THÉNEL. — Voir NICOLLE (Ch.).   | XVI.   | 562        |
| THIROUX. — Peste endémique.....   | XIX.   | 62         |
| — Recherches sur <i>Trypanosoma Paddæ</i> .....                             | XIX.   | 65         |
| — — — <i>Duttoni</i> .....  | XIX.   | 364        |
| — Fièvre tropicale, relations avec la quartre et la tierce                  |        |            |
| — .....<br>TISSIER et MARTELLY. — Putréfaction de la viande de boucherie .. | XVII.  | 869        |
| — et GASCHING (P.). — Fermentation du lait.....                             | XVII.  | 540        |
| — Microbes dans l'intestin du nourrisson.....                               | XIX.   | 109 et 273 |
| TIZZONI (G.) et BONGIOVANNI (A.). — Le radium sur le virus rabique.         | XX.    | 682        |
| TRILLAT (A.) et TURCHET. — Recherche de l'ammoniaque dans les               |        |            |
| — eaux.....   | XIX.   | 259        |
| — et SAUTON. — L'ammoniaque dans le lait.....                               | XIX.   | 494        |
| — Aldéhyde formique dans les produits de la combustion .....                | XIX.   | 748        |
| — Des feux comme moyen de défense contre la peste.....                      | XIX.   | 734        |
| — et SAUTON. — Dosages des albuminoïdes dans les fromages .....             | XX.    | 962        |
| — — — Le dosage de la matière albuminoïde du lait.....                      | XX.    | 991        |
| TRIOLLET. — Stérilisation du catgut à l'autoclave.....                      | XVIII. | 267        |
| TSIKLINSKY (Mlle). — Flore microbienne thermophile .....                    | XVII.  | 217        |
| TURCHET. — Voir TRILLAT.....  | XIX.   | 259        |
| URIZAR (R.). — Voir ELMASSIAN.....  | XX.    | 969        |
| VAILLARD (L.) et DOPTER (Ch.). — Dysenterie épidémique.....                 | XVII.  | 463        |
| — — — — Sérum antidysentérique.....   | XX.    | 321        |
| VALLÉE. — Voir LECLAINCHE.....  | XVI.   | 614 et 931 |
| — Sur un nouveau streptothrix.....  | XVII.  | 288        |
| — Sur l'accoutumance à la tuberculine.....                                  | XVIII. | 545        |
| — Des lésions pulmonaires dans la tuberculose.....                          | XIX.   | 619        |
| VANSTEENBERGUE. — Vaccinations antirabiques à Lille.....                    | XVII.  | 606        |
| — et GRISEZ. — Origine intestinale de l'authracose                          |        |            |
| — — — pulmonaire.....   | XIX.   | 786        |
| — — — — Le méningocoque.....  | XX.    | 69         |
| VASSAL (J.-J.) — Hématozoaire nouveau d'un mammifère .....                  | XIX.   | 224        |
| — Tryponosomiase des chevaux de l'Annam .....                               | XX.    | 256        |
| VAUDIN (L.). — Rôle des hydrates de carbone.....                            | XVI.   | 83         |
| VIALA (E.). — Vaccinations antirabiques à l'Institut Pasteur (1904).        | XVI.   | 452        |
| — — — — (1902).   | XVII.  | 363        |
| VIALA (J.). — — — — (1903).   | XVIII. | 413        |
| — — — — (1904).   | XIX.   | 411        |
| — — — — (1905).   | XX.    | 509        |

## TABLE DES MATIÈRES

1067

|  |        |     |
|--|--------|-----|
| VINCENT (H.). — Tétanos médical ou spontané .....                  | XVIII. | 450 |
| — Tétanos et quinine .....   | XVIII. | 748 |
| — Le <i>Bacillus coli</i> dans les eaux potables .....             | XIX.   | 233 |
| WALLICH (V.) et LEVADITI (C.). — Éléments cellulaires du lait chez |        |     |
| la femme .....   | XIX.   | 324 |
| WEIL (EMILE). — Culture du bacille lépreux .....                   | XIX.   | 792 |
| WEINBERG. — Voir METCHNIKOFF .....                                 | XVI.   | 912 |
| — Un cas d'appendicite chez le chimpanzé .....                     | XVIII. | 323 |
| WEISWELLER. — Voir BERTRAND .....                                  | XX.    | 977 |
| WIZE (K.). — Voir DANYSZ .....                                     | XVII.  | 421 |
| WOLFF (J.). — Voir FERNBACH (A.) .....                             | XVIII. | 163 |
| YERSIN. — Episooties de l'Indo-Chine .....                         | XVIII. | 417 |
| ZABOLOTNOFF (P.). — Existence d'un fixateur dans l'organisme       |        |     |
| de l'animal ayant l'immunité naturelle. XVIII.                     |        | 527 |

# TABLE ANALYTIQUE DES SUJETS TRAITÉS DANS LES TOMES XVI A XX

*Adrénaline*, sa formule et sa composition, XVIII, 672.  
*Agglutination*, XVI, 562; — rôle de l'enveloppe des microbes, 595; dissociation des propriétés agglutinantes, 690; XVIII, 209; des globules rouges, 678.  
*Albuminoides*, dosage de la matière A dans les fromages, XX, 962.  
*Alcool*, est-il un aliment? XVI, 857; — ses droits naturels, XVIII, 770.  
*Alexines*, leur pluralité, XVII, 343.  
*Algues vertes*, physiologie, XVII, 369.  
*Aliments ternaires*, modes d'utilisation par les végétaux et les microbes, XVI, 195 — 346 — 433; — ce que c'est qu'un aliment, XVII, 307; alimentation azotée d'une algue, 321; — XVIII, 277, 721.  
*Amibes*, sur leur digestion et sur leur diastase intracellulaire, XVI, 457.  
*Amibocytes*, dans le cœlum d'un annélide, XVII, 449.  
*Anaérobies*, leur différenciation, XVI, 641; — XVII, 850; — méthode de culture, XVIII, 332; — culture appliquée à l'analyse des eaux, XX, 454.  
*Anopheles* de la banlieue de Paris, XVI, 940; — d'Algérie, XVII, 60 — 763.  
*Anthracose*, pulmonaire, son origine intestinale, XIX, 786.  
*Anticorps* des spores, XVI, 756; — XVIII, 544; — leur origine, XX, 225.  
*Antitoxine*, contre le botulisme, XVI, 294; — 331; — XVII, 161; — valeur thérapeutique, XIX, 249.  
*Appareils* pour broyage de la pulpe d'organes, XVI, 947; — crachoir stérilisable, XVII, 447; — pour l'agitation continue des cultures, XVIII, 264.  
*Appendicite*, chez le chimpanzé, XVIII, 323; — bactériologie, XIX, 367.  
*Arsenic*, sa recherche dans l'organisme. XVI, 553; — XVII, 4; 516; 581.  
*Bacillus putrificus*, XX, 407.  
*Bactéries* banales, leur transformation en races parasites des plantes, XVI, 306; Influence des B. sur le sérum, XVIII, 576.  
*Bacterium Zoophi*, XVIII, 712; — XX, 4005.  
*Cadavres*, importance de leur examen bactériologique, XVIII, 767.  
*Cellules* nerveuses, mécanisme de leur destruction, XX, 839.  
*Champignons*, le bleuissement de certains ch., genre *boletus*, XVI, 179.  
*Charbon symptomatique*, XVI, 931.  
*Choléra*, épidémie d'origine hydrique, XIX, 841.  
*Cils* composés, XVI, 686.  
*Clavelée*, étude et sérothérapie, XVII, 423 — 732.  
*Cleonus punctiventris*, XVII, 421.  
*Coagulation* de l'amidon, XVIII, 463.  
*Coqueluche*, son microbe, XX, 731.  
*Coli bacille*, dans les eaux d'alimentation, XIX, 124 — 233.  
*Combustion respiratoire*, XVIII, 553.  
*Cytases*, XVI, 127; — C. hémolytique dans le plasma des animaux normaux, 233.

*Désinfection*, par l'aldéhyde formique, XIX, 748.  
*Diastases*, hydrolytiques, XVII, 31; — actions diastasiques reversibles, XX, 901.  
*Diptères*, récolte et conservation, XX, 547.  
*Dourine*, unicité. XIX, 715.  
*Dysenterie*, épidémique, XVII, 463 — des pays chauds, XIX, 9 — 353 — 417.  
*Eaux*, résiduaires, XVIII, 481; — recherche de l'ammoniaque, XIX, 259; résiduaires, 529; surveillance, 544.  
*Épithélioses et épithéliomas*, XVII, 81; — des oiseaux, XX, 742; — corps intra-épithéliaux de Guarneri, 779.  
*Epizooties* de l'Indo-Chine, XVIII, 417.  
*Etuves* à température constante par chauffage électrique, XVI, 779.  
*Fièvre jaune*, rapports de la mission française, XVII, 665; XX, 16, 104, 161.  
*Fixateurs* du sérum normal de chien, XVI, 623; — XVIII, 527.  
*Garotilha*, XVII, 564.  
*Gastro-entérites*, infectieuses, XIX, 426.  
*Glycolyse* des organes de mammifères, XVIII, 633.  
*Goutte*, pathologie, XVIII, 468.  
*Hématozoaire* endoglobulaire, XIX, 224.  
*Hémolyse*, XVII, 52; hémolysines, 187; — XIX, 84, 593.  
*Hydrate de carbone*, leur rôle dans l'utilisation des sels insolubles dans l'organisme, XVII, 85.  
*Hydrolyse* des protoplasmides, XVII, 74.  
*Hydrographie* souterraine, XVII, 523, 640, 857; XVIII, 121, 197, 269.  
*Immunisines*, leur rôle dans la phagocytose, XVI, 106.  
*Injections* thérapeutiques, XIX, 373; — de couleurs de benzidine, XX, 539.  
*Laccase*, son action sur le gaiacol, XVIII, 416.  
*Lait*, le leben d'Égypte, XVI, 65; — fermentation, XVII, 540; nature des éléments cellulaires, XIX, 321; recherche de l'ammoniaque, 494; — action du ferment bulgare, XX, 977; — dosage de la matière albuminoïde, XX, 991.  
*Lèpre*, bacilles dans l'organisme des animaux, XVI, 703; essai de culture, XIX, 792; — recherches expérimentales, XX, 389.  
*Levures* de lactose, XVII, 41; — de bière et suppuration, 631; — pressée XIX, 503.  
*Loque*, maladie des abeilles, XVI, 694.  
*Mal de Caderas* XVII, 244; — XVIII, 587.  
*Maladies infectieuses*, lésions des ganglions nerveux dans les..., XVI, 904; — réaction de la tortue terrestre, XIX, 266; — de l'intestin chez le nourrisson, 273.  
*Mannite*, par les maladies des vins, XVII, 587; — fermentation mannitique, XVIII, 385.  
*Méningocoque*, XX, 69.  
*Microbes*, thermophiles, XVII, 217; nitrificateurs, 492; nitrificateurs, XVIII, 181; — leur rôle dans la fermentation alcoolique, 382; — dans l'intestin du nourrisson, XIX, 109, 404; — dans l'industrie fromagère, 378, 431; —

phagocytose *in vitro*, 647; — différenciation, 803; leur action sur la solution de bleu azur, 846; — producteur d'acétone, XX, 874.

*Morve* expérimentale du cobaye, XX, 625, 698, 804.

*Neutralroth*, son rôle dans la phagocytose, XVI, 663.

*Neutrophiles* d'Ehrlich, XVII, 357.

*Paludisme*, étude de son hématozoaire en Algérie, XVI, 185; — XVII, 68; — XVIII, 49, 64; — XIX, 129; — XX, 241, 384; — de la fièvre tropicale, quarte et tierce, 766, 869.

*Paraméciies*, action du sérum sanguin sur les..., XVI, 540; — action de la lumière sur la toxicité de l'éosine pour les *P.*, 587.

*Paratyphiques*, cultures, fonctions, XX, 1.

*Pasteurelloses*, en Turquie, XVI, 775; — XX, 81.

*Péripneumonie* des bovidés, XX, 449.

*Peste*, — bovine, XVI, 56; modifications leucocytaires, 163. — Durée du microbe injecté vivant au cheval, 842; immunisation, 948; — sérothérapie, XVII, 599; — eudémique, XIX, 62; — et typhoïde, 477; — moyens de défense, 734.

*Phagocytose* *in vitro*, — XX, 939.

*Piroplasmose*, canine, XVI, 257; bovine, malaria des bovidés, 291.

*Pneumoentérite*, action du sérum normal, XVI, 94.

*Pneumonie* fibrineuse, XVIII, 304.

*Pretéolyse*, influence de l'oxygène en présence du chloroforme, XVI, 833.

*Protozoaires*, coloration et neutrophilie, XVIII, 764; — XIX, 346, 351.

*Pseudotuberculose*, streptobacillaire du surmulot, XVI, 97.

*Putréfaction*, de la viande de boucherie, XVI, 865.

*Pyocyanique*, biologie du bacille, XVI, 313.

*Rage*, statistique de Tunis, XVI, 386; l'Institut antirabique de Bordeaux, 394; — immunisation par les injections intravasculaires, 393; statistique de l'Institut Pasteur, en 1901, 452; XVII, 293, 298, 365, 616, 644, 834; — passage du virus à travers les filtres, XVIII, 450; guérison chez le chien, 241, 443; — quelques faits, 644; statistique, 654; — diagnostic histologique, XIX, 49, 411; — accidents paralytiques, 625; — action du radium, XX, 206, 682; statistique 509.

*Résorption* des cellules, XVI, 522; — phagocytaire, XVII, 617.

*Rouissement*. Étude microbiologique et chimique (bis), XVI, 379.

*Sang*, recherches sur la coagulation, XVII, 822; — XVIII, 26, 98.

*Sensibilisatrices* des sérum actifs contre les substances albuminoïdes, XVI, 734; — antisensibilisation, XVIII, 593; — spécifique, XIX, 733; — relations avec l'alexine, XX, 467.

*Sérum* précipitants, XVI, 833; — dans la diphtérie, XVIII, 41; — antistreptococcique, 363; — de cheval, 407; — antirabique, XIX, 1; — hémolytiques, 765; — XX, 1018; — antidysentérique, XX, 321; — toxique des nerfs périphériques, 601; — névrotoxiques et leurs lésions, 838.

*Sphacellaire*, maladie *sp.* des bovidés du Paraguay, XX, 969.

*Spirillose* des poules, XVII, 569; — XVIII, 129; — d'un chéiroptère, XX, 311; — des poules, 593, 924.